
Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen zur
Adsorption von Emulgatoren an Saccharosepartikeloberflächen
in kakaobutterbasierten Suspensionen

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Dana Maria Middendorf
aus Löningen

Referentin: Professorin Dr. Petra Mischnick
Referent: Professor Dr. Georg Garnweitner
eingereicht am: 02.02.2015
mündliche Prüfung (Disputation) am: 20.05.2015

Druckjahr 2015

Veröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch die Mentorin der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikationen

Middendorf, D., Juadjur, A., Bindrich, U. und Mischnick, P. AFM Approach on Mechanism of Function of PGPR's Emulsifying Property in Cocoa Butter Based Suspensions. Food Structure (2014), im Druck, 31.12.2014, doi.org/10.1016/j.foostr.2014.11.003

Middendorf, D., Franke, K., Bindrich, U. und Heinz, V. New Insights into the Differences between Ball Mill and Roller Mill Refining for Chocolate Manufacturing. SweetVision, 1: 14-16 (2015).

Lampe, D., Bindrich, U., Mischnick, P., Franke, K., und Strijowski, U. Untersuchungen zur Adsorption von Emulgatoren mittels gekoppelter Dünnschichtchromatographie-Massenspektrometrie (TLC-MS). Lebensmittelchemie, 67: 24–39 (2013).

Tagungsbeiträge

Middendorf, D., Bindrich, U., Juadjur, A. und Mischnick, P.: Emulsifiers' Adsorption on Ground Sucrose Particles and its Influence on Functional Properties of Cocoa Butter Based Suspensions. (Vortrag) ChocoTec, Köln (2014).

Middendorf, D., Bindrich, U., Juadjur, A., Mischnick, P. und Franke, K.: PGPR's Mechanism of Function as Emulsifier in Cocoa Butter Based Suspensions – an AFM Approach. (Poster) 12th Euro Fed Lipid Congress, Montpellier (2014).

Bindrich, U., Lampe, D., Juadjur, A. und Franke, K.: Struktur-Eigenschaftsbeziehungen in zuckerhaltigen, lipophilen Systemen. (Vortrag) Arbeitskreistagung Schokolade, ETH Zürich (2014).

Lampe, D., Bindrich, U., und Mischnick, P.: The use of AFM to characterize the effect of emulsifiers' adsorption on the functional properties of ground sucrose particles in cocoa butter based suspensions. (Vortrag) Food Structure and Functionality Forum Symposium, Amsterdam (2014).

Lampe, D., Bindrich, U. und Mischnick, P.: Wechselwirkungen von Emulgatoren und Feststoffoberflächen am Beispiel von Süßwaren. (Vortrag) Think Tank Food – foodactive e.V., Hamburg (2013).

Lampe, D., Bindrich, U. und Franke, K.: Characterization of Emulsifiers ´ Adsorption on Solid Particle Surfaces in Lipophilic Suspensions. (Vortrag) 6th International Symposium on Food Rheology and Structure, Zürich (2012).

Bindrich, U., Lampe, D. und Mathys, A.: Structure-property-relationships Characterized by Atomic Force Microscopy (AFM). (Vortrag) EU-Korea Conference on Science and Technology, Berlin, (2012).

Lampe, D., Bindrich, U., Mischnick, P. und Franke, K.: Characterization of Solid Surfaces in Lipophilic Suspensions by Atomic Force Microscopy. (Poster) ChocoTec, Köln (2012).

Lampe, D., Bindrich, U., Mischnick, P., Franke, K. und Strijowski, U.: Untersuchungen zur Adsorption von Emulgatoren mittels gekoppelter Dünnschichtchromatographie-Massenspektrometrie (TLC-MS). (Poster) 41. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Münster, 2012.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Deutschen Institut für Lebensmitteltechnik e.V. in Quakenbrück unter der Anleitung von Frau Dr.-Ing.-habil. Ute Bindrich angefertigt. Die Mentorinnenschaft übernahm Frau Prof. Dr. Petra Mischnick vom Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Braunschweig.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Frau Dr. Ing.-habil. Ute Bindrich für die interessante Aufgabenstellung und das mir entgegengebrachte Vertrauen nicht nur bei der Beantragung und Bearbeitung des Forschungsvorhabens sowie die großzügigen Möglichkeiten und Freiräume bei der Arbeit. Außerdem danke ich für ihre ständige Diskussionsbereitschaft sowie die Möglichkeit zur Erweiterung meiner Kenntnisse im Bereich physikalischer Analysemethoden, ihre immerwährende Unterstützung auch bei der Erstellung von Postern, Veröffentlichungen und Vorträgen sowie der Möglichkeit zur Teilnahme an Fachtagungen.

Auch bei Frau Prof. Dr. Petra Mischnick möchte ich mich ganz herzlich bedanken, insbesondere für die Übernahme der Mentorinnenschaft, ihre fortwährende Unterstützung und Diskussionsbereitschaft sowie immer hilfreiche und konstruktive Kritik. Ich bedanke mich ausdrücklich auch für die intensive Betreuung sogar aus der Ferne.

Für die Übernahme des Zweitgutachtens möchte ich mich bei Herrn Prof.Dr. Georg Garnweitner bedanken, Herrn Prof. Dr. Joachim Jördening danke ich für die Mitarbeit in der Prüfungskommission.

Außerdem bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern der Firma Asylum Research für die unkomplizierte Unterstützung bei allen Fragen rund um AFM, Software, Programmierung und Messtechnik sowie die freundliche Überlassung von so manchem Zusatzequipment. Insbesondere möchte ich mich bei Friedhelm Freiss für seinen unerschütterlichen Optimismus, seine außergewöhnliche Hilfsbereitschaft und seine Geduld bedanken. Vielen Dank für das Korrekturlesen meiner Arbeit und den freundschaftlichen Rat bei Problemen in allen AFM- und Lebenslagen.

Ein besonderer Dank gilt ebenso Herrn Dr. Knut Franke für seine wertvolle Unterstützung zu Beginn meiner Arbeit am DIL, bei der Beantragung des Forschungsvorhabens und die interessanten Diskussionen, die schönen Stunden bei gemeinsam besuchten Fachtagungen sowie ein ganz herzlicher Dank für das Korrekturlesen meiner Arbeit sowie der Veröffentlichungen, Poster und Vorträge. Auch Herrn Dr. Ulf Strijowski möchte ich für seine Unterstützung zu Beginn meiner Arbeit, während der Projektplanung und –beantragung danken.

Auch danke ich Julia Cuers und Marvin Winkler vom Arbeitskreis Mischnick der TU Braunschweig für die Unterstützung bei der Herstellung von amorpher Saccharose.

Bei Herrn Dr. Andreas Juadjur und seinen Mitarbeitern Elisabeth Heitkamp, Heike Hackmann und Stefan Gebken möchte ich mich ganz herzlich bedanken für die Unterstützung im Rahmen der Emulgatoranalytik, für sein immer offenes Ohr, seinen Rat und auch seine fachliche und moralische Unterstützung gerade während der Endphase meiner Doktorarbeit.

Außerdem danke ich allen Mitarbeitern des Zentrums für Lebensmittelphysik des DIL e.V. für die tolle Arbeitsatmosphäre, die stets unkomplizierte Zusammenarbeit und Unterstützung. Insbesondere bedanke ich mich bei Berit Fitzner und Katrin Heinzelmann für die Herstellung der unzähligen Suspensionen. Vielen Dank auch an Maren Bergmann für die zahlreichen rheologischen Messungen und vielen Dank an die ehemaligen und derzeitigen Auszubildenden Katrin Warskulat, Malte Fehrlage und Eduard Wildt für die Bestimmung der Fettimmobilisierung. Frank Herkenhoff möchte ich für die vielen nützlichen Tipps und Ideen rund um die praktische Arbeit danken. Ebenso bedanke ich mich bei Susanne Wilmering und Claudia Pelters für die großen und kleinen Dinge, die mir den Arbeitsalltag erleichtert und auch verschönert haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Eltern Helmut und Annegret sowie bei meinem Bruder Hendrik bedanken. Ihr habt mich immer unterstützt und immer an mich geglaubt! Danke für euer Vertrauen! Vor allem möchte ich mich auch bei meinem Mann Daniel bedanken. Danke, dass du mich immer mit all deiner Kraft unterstützt, motiviert und mich auch mal auf andere Gedanken gebracht hast! Danke euch allen! Ohne euch wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen!

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet

Diese Arbeit basiert auf dem IGF-Vorhaben AiF 16757 N
der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI),
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn,
und wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen
Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF) vom
Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines
Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	XII
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	XIII
1 Einleitung	1
1.1 Lipophile Suspensionen – Schokoladenmassen	1
1.2 Emulgatoren – Grenzflächenaktive Substanzen	3
1.2.1 Emulgatoren in der Schokoladenindustrie	3
1.2.2 Wirkungsweise ausgewählter Emulgatoren	8
1.3 Saccharose	11
1.4 Rheologische Charakterisierung	15
1.5 Rasterkraftmikroskopie (AFM)	19
1.5.1 Aufbau und Prinzip des Rasterkraftmikroskops	19
1.5.2 Topographische Betriebsmodi	21
1.5.2.1 Kontakt-Modus	21
1.5.2.2 Oszillations-Modi	22
1.5.3 Kraftspektroskopie	27
1.5.4 Lokale Thermische Analyse (LTA)	32
2 Problemstellung und Zielsetzung	34
3 Ergebnisse und Diskussion	37
3.1 Zerkleinerung von Saccharosepartikeln in lipophilen Modellsuspensionen	37
3.1.1 Einfluss der Zerkleinerung auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel	39
3.1.1.1 Topographische Charakterisierung der Saccharosepartikeloberflächen mittels Rasterkraftmikroskopie	39
3.1.1.2 Bestimmung der Oberflächenadhäsivität von Saccharosepartikeln mittels Rasterkraftmikroskopie	42

3.1.1.3	Charakterisierung der Saccharosepartikel hinsichtlich amorpher und kristalliner Zustände nach Kugelmühlenzerkleinerung.....	46
3.1.1.4	Fettimmobilisierung an Saccharosepartikeln	51
3.1.2	Einfluss der Zerkleinerung auf die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen.....	53
3.2	Veränderung der Saccharoseoberflächen durch Anlagerung einzelner Emulgatoren	55
3.2.2	Einfluss auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel.....	57
3.2.2.1	Topographische Charakterisierung der Saccharosepartikeloberflächen mittels Rasterkraftmikroskopie	57
3.2.2.2	Bestimmung der Oberflächenadhäsivität der Saccharosepartikel mittels Rasterkraftmikroskopie	59
3.2.2.3	Detaillierte Betrachtung der Anlagerung von Phosphatidylcholin	63
3.2.2.4	Diffusionsgesteuerte Anlagerungskinetik von Phosphatidylcholin.....	65
3.2.2.5	Grenzflächenbelegung von zerkleinerten Saccharosepartikeln mit Emulgatormolekülen.....	68
3.2.2.6	Abschätzung der Schichtdicke	73
3.2.2.7	Fettimmobilisierung an den Saccharosepartikeln	75
3.2.2.8	Einfluss auf die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen.....	77
3.2.3	Herleitung eines Konzeptes zur Wirkungsweise von PGPR [93]	78
3.3	Einsatz von Emulgatorgemischen zur Optimierung der Oberflächeneigenschaften zerkleinerter Saccharosepartikel	83
3.3.1	Auswahl der Emulgatorgemische	83
3.3.2	Einfluss der Emulgatorgemische auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel.....	85
3.3.2.1	Rasterkraftmikroskopie der Saccharosepartikeloberflächen	85
3.3.2.2	Bestimmung der Grenzflächenbelegung von Saccharosepartikeln mit Emulgatorgemischen.....	87
3.3.2.3	Fettimmobilisierung an den Saccharosepartikeln	88
3.3.3	Einfluss der Emulgatorgemische auf die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen.....	89
3.3.4	Vergleich der Eigenschaften beim Einsatz von unterschiedlichen Gesamtemulgatorkonzentrationen.....	90

4	Zusammenfassung und Ausblick	92
5	Summary and future prospect	96
6	Material und Methoden	99
6.1	Rohstoffe	99
6.2	Chemikalien	101
6.3	Herstellung der Kakaobutter-Saccharose Modellsuspensionen.....	102
6.3.1	Herstellung ohne Zerkleinerung der Saccharose.....	102
6.3.2	Herstellung mit Zerkleinerung der Saccharose.....	102
6.3.3	Mechanische Bearbeitung der Suspensionen (Conchieren)	104
6.4	Methoden zur Charakterisierung der Saccharosepartikel und deren Suspensionen	104
6.4.1	Partikelgrößenverteilung der Saccharose in den Suspensionen.....	104
6.4.2	Bestimmung der Menge an immobilisiertem Fett an den Partikeloberflächen – Sedimentationsverhalten.....	105
6.4.3	Bestimmung der Grenzflächenbelegung der Saccharosepartikel mit Emulgatoren	105
6.4.4	Herstellung der Saccharose durch Gefriertrocknung zur Untersuchung auf amorphe Eigenschaften	106
6.4.5	Rheologische Eigenschaften der Suspensionen	107
6.4.6	Rasterkraftmikroskopie der Saccharoseoberflächen	108
6.4.6.1	Probenvorbereitung für die Bestimmung von Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel aus den Modellsuspensionen	109
6.4.6.2	Bestimmung der Oberflächentopographie unter Stickstoffatmosphäre .	109
6.4.6.3	Bestimmung der Adhäsivität unter Stickstoffatmosphäre.....	109
6.4.6.4	Versuche zur Rekristallisation amorpher Oberflächen.....	110
6.4.6.5	Bestimmung der Oberflächentopographie unter flüssiger Kakaobutter .	112
6.4.6.6	Diffusionsgesteuerte Anlagerungskinetik in flüssiger Kakaobutter.....	113
6.4.6.7	Lokale Thermische Analyse	113
6.4.7	Thermische Analyse mittels DSC	114
6.4.8	Abschätzung der Schichtdicke aus der plastischen Deformation der Oberfläche	114
6.5	Chemisch-analytische Bestimmungen	115

6.5.1	Bestimmung des Gehaltes an Phospholipiden	115
6.5.2	Bestimmung des Gehaltes an Polyglycerin-Polyricinolat	116
6.5.3	Bestimmung des Gehaltes an Zitronensäureestern mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäure	117
6.5.4	Untersuchung der Grenzschicht auf den Saccharosepartikeln	120
6.5.5	Bestimmung der Fettsäureverteilung	121
7	Literatur	123
8	Anhang.....	131
8.1	Partikelgrößenverteilungen der zerkleinerten Suspensionen	131
8.2	Test der AFM-Messspitze auf Abnutzung	132
8.3	DSC- Messungen zur Bestimmung von Glasübergangs- und Schmelztemperatur der Saccharide	133
8.4	Erkennung von Scanartefakten	140
8.5	Ergebnis der dünnschichtchromatographischen Untersuchung nach Festphasenextraktion zur Bestimmung der Zitronensäureester	141
8.6	Einsatz unterschiedlicher Gesamtemulgatorkonzentrationen	142

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1:	Schematischer Aufbau der Phospholipide am Beispiel des Phosphatidylcholins (PC), R und R1 = Fettsäurereste	4
Abb. 1.2:	Struktur weiterer möglicher Kopfgruppen, Inositol dargestellt als myo-Inositol	5
Abb. 1.3:	Grundstruktur von PGPR (schematisch) mit R = H, Fettsäure- oder Polyrizinolfettsäurerest, in Anlehnung an [30]	6
Abb. 1.4:	Beispiel eines Emulgators auf Basis Zitronensäureester, R = -H oder Fettsäurerest.....	7
Abb. 1.5:	Graphische Veranschaulichung von Saccharosepartikeln belegt mit der Lecithinfraktion Phosphatidylcholin, in Anlehnung an [9].....	10
Abb. 1.6:	Molekulare Struktur der Saccharose: β -d-Fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -d-glucopyranosid.....	11
Abb. 1.7:	links: Abmessungen und Geometrie eines Saccharosemoleküls, rechts: Aufbau des Kristallgitters aus Saccharosemolekülen, schematische Darstellung in Anlehnung an [43]	12
Abb. 1.8:	Saccharosemoleküle links sowie daraus gebildete Elementarzelle (Index EZ) rechts Darstellung a) entgegen der z-Richtung; b) entlang der x-Richtung, c) entlang der y-Richtung.	13
Abb. 1.9:	Schematische Darstellung der Amorphisierung durch Zerkleinerung	14
Abb. 1.10:	Das Zwei-Platten-Modell zur Veranschaulichung rheologischer Messgrößen, Erläuterung siehe Text	15
Abb. 1.11:	Fließfunktion (links) und Viskositätsfunktion (rechts) eines Newtonschen Fluides	16
Abb. 1.12:	Fließfunktionen idealer, nicht-Newtonscher Fluide, zusammengestellt nach [54]	17
Abb. 1.13:	Zylindermesssystem zur Bestimmung der Fließfunktion, in Anlehnung an [1,54].....	18
Abb. 1.14:	Beispiel einer Fließ- und Viskositätsfunktion einer Kakaobutter-Saccharose-Suspension, gemessen mit einem Zylindermesssystem, vgl. Abb. 1.13 sowie Kap. 6.4.4	18
Abb. 1.15:	links: Funktionsprinzip des Rasterkraftmikroskops; rechts: Cantilever am Trägerchip.....	20
Abb. 1.16:	Auf den Cantilever wirkende Kräfte als Funktion seines Abstandes zur Probenoberfläche, Erläuterungen siehe Text	21
Abb. 1.17:	Allgemeines Funktionsprinzip der Oszillationsmodi, Erl. siehe Text.....	23

Abb. 1.18: Darstellung der Kräftebereiche für verschiedene Oszillationsmodi mit unterschiedlichen Amplituden, Erläuterung siehe Text	24
Abb. 1.19: Unterschiedliche Darstellungen des Scans einer Saccharoseoberfläche im Semikontakt-Modus: a) Höhenbild, b) Amplitudenbild, c) Phasenbild und d) Z-Sensor-Bild sowie e) eine dreidimensionale Darstellung des Höhenbildes Erläuterungen siehe Text	26
Abb. 1.20: Kraft-Abstands-Kurve gemessen mit AFM, Erläuterungen siehe Text	27
Abb. 1.21: Ursachen der topographieabhängigen Adhäsion, Erläuterung siehe Text	28
Abb. 1.22: Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Oberflächenadhäsivität einer Glimmeroberfläche	29
Abb. 1.23: Bestimmung der Laser-Cantilever-Detektor-Empfindlichkeit	30
Abb. 1.24: Prinzip der Aufnahme von Kraft-Karten (links) sowie resultierende Grauwertbild (rechts), Erläuterungen siehe Text	31
Abb. 1.25: Beispiel einer Häufigkeitsverteilung der Adhäsivitäten errechnet aus einer 1 x 1 μm Kraftkarte mit 900 Messpunkten, ca. 30 nm^2 pro Messpunkt	32
Abb. 1.26: Veränderung der Cantileverauslenkung durch lokale Erhitzung als Funktion der Spannung am Heizelement (=Temperatur), Erläuterungen siehe Text	33
Abb. 3.1: Ergebnis der Partikelgrößenanalyse der Suspension, deren Saccharosepartikel nicht zerkleinert wurden, Volumenverteilung dargestellt als Dichteverteilung und Summenverteilung	37
Abb. 3.2: Ergebnis der Partikelgrößenanalyse am Beispiel der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) zerkleinert wurden	38
Abb. 3.3: Sauterdurchmesser und spezifische Oberfläche der Saccharosepartikel nach der Zerkleinerung	38
Abb. 3.4: a) Topographie einer in flüssiger Kakaobutter erzeugten Bruchfläche eines Saccharosekristalls, b) Ausschnittvergrößerung des markierten Bereiches von a), c) Querschnitt der Topographie an markierter Stelle in b)	39
Abb. 3.5: Vergleich repräsentativer Aufnahmen der Oberflächentopographie von Saccharose nach Zerkleinerung mittels a) Schlagmühle, b) Kugelmühle \varnothing 1,5 cm, c) Kugelmühle \varnothing 0,8 cm sowie d) Walzenstuhl mit der Oberflächentopographie eines e) unzerkleinerten Saccharosepartikels, Erläuterung der Markierungen siehe Text	41
Abb. 3.6: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an unzerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm , jede Farbe entspricht der Auswertung einer Kraftkarte	43
Abb. 3.7: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Schlagmühle zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm	44
Abb. 3.8: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugel- \varnothing 1,5 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm	44

Abb. 3.9: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmessers 0,8 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm	45
Abb. 3.10: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit einem Walzenstuhl zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm	46
Abb. 3.11: Veränderung einer amorphen Saccharoseoberfläche durch Rekristallisation und Vergleich mit dem Oberflächenzustand nach Kugelmühlenzerkleinerung, Topographieaufnahmen mittels AFM.....	47
Abb. 3.12: Lineare Regressionsgerade für die lokale thermische Analyse mittels AFM; erstellt aus der Korrelation des mittels AFM-Messspitze bestimmten Widerstandes sowie der Schmelz- bzw. Glasübergangstemperatur verschiedener, niedrigmolekularer Kohlenhydrate bestimmt mittels DSC; Abweichung angegeben als Standardabweichung	48
Abb. 3.13: links: Topographie von mittels Kugelmühle zerkleinerter Saccharose mit der Punktzuordnung für die einzelnen LTA, rechts: graphische Zuordnung der Temperaturbereiche zu der Oberflächentopographie, rot \triangleq amorpher, orange \triangleq teilamorpher, grün \triangleq kristalliner Oberflächenbereich	49
Abb. 3.14: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett der Saccharosepartikel aus den Suspensionen ohne Emulgatorzusatz vor und nach Zerkleinerung der Saccharose.....	52
Abb. 3.15: Modellvorstellung zur Fettimmobilisierung in Abhängigkeit von der Partikelgröße und –oberfläche der Saccharose nach Zentrifugation für a) unzerkleinerte Partikel und b) zerkleinerte Partikel.....	52
Abb. 3.16: Gleichgewichtviskosität und Fließgrenze der Suspensionen ohne Emulgatorzugabe nach unterschiedlicher Zerkleinerungsart der Feststoffe.....	54
Abb. 3.17: DSC-Kurven von a) amorpher sowie von durch b) Aceton rekristallisierter Saccharose.....	56
Abb. 3.18: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von Zitronensäureestern zerkleinerten Saccharosepartikeln	57
Abb. 3.19: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von PGPR zerkleinerten Saccharosepartikeln	58
Abb. 3.20: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von Sojalecithin zerkleinerten Saccharosepartikeln, Erläuterung der Markierungen siehe Text	58
Abb. 3.21: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von Sonnenblumenlecithin zerkleinerten Saccharosepartikeln, Erläuterung der Markierungen siehe Text	59
Abb. 3.22: Stärke der Oberflächenbelegung der Saccharosepartikel mit Emulgatoren, Zuordnung auf Grundlage der AFM-Topographiebilder	59

Abb. 3.23: Histogramme der Kraft-Karten von AFM-Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Polyglycerin-Polyricinolat belegten Saccharosepartikeln, Scangröße 2x2 µm	60
Abb. 3.24: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Zitronensäureestern belegten Saccharosepartikeln, Scangröße 2x2 µm	61
Abb. 3.25: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Sojalecithin belegten Saccharosepartikeln, Scangröße 2x2 µm	61
Abb. 3.26: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Sonnenblumenlecithin belegten Saccharosepartikeln, Scangröße 2x2 µm	62
Abb. 3.27: Auf Grundlage der AFM-Adhäsivitätsmessungen abgeschätzte Ausdehnung der Oberflächenbelegung der Saccharosepartikel mit Emulgatoren.....	62
Abb. 3.28: Veränderung der Oberflächenadhäsivität durch Zugabe des Emulgators PC auf einer Saccharoseoberfläche ähnlich der in Abb. 3.4 a, die Stufen sind durch diagonale Linien verdeutlicht, a) Topographie, b) Karte der Adhäsivität vor Zugabe und b) nach Zugabe von PC (AFM)	63
Abb. 3.29: Molekularer Aufbau von Saccharose, links: Strukturformel, Mitte: zwei in der Elementarzelle angeordnete Saccharosemoleküle, rechts: räumliche Ausdehnung der Atome im Ball-Modell	64
Abb. 3.30: a) Wechselwirkung der PC-Kopfgruppe mit der Oberfläche des Saccharosemoleküls, b) Vergleich der Wechselwirkungen an der Oberfläche mit der Wechselwirkung an einer Bruchkante, Ball-Modell erstellt mit Mercury 3.0 (CCDC, Cambridge, UK), Struktur des Lecithinmoleküls freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Avanti Polar Lipids, Inc., Erläuterungen siehe Text	65
Abb. 3.31: Zeitabhängige Veränderung der Verteilung der Oberflächenadhäsivität (AFM) einer Saccharosekristalloberfläche nach Injektion einer Lösung aus Phosphatidylcholin und Kakaobutter, Zeitpunkt der Injektion markiert durch Pfeil.....	67
Abb. 3.32: zwei AFM-Kraftkarten nach einer Zeit von 12 h im Gleichgewichtszustand aufgenommen, zeitlicher Abstand zwischen den beiden Messungen: ca.15 min, Erläuterungen siehe Text	67
Abb. 3.33: Prozentuale Verteilung der adsorbierten Anteile der jeweiligen Phospholipidfraktion bezogen auf die eingesetzte Menge des entsprechenden Lecithins	73
Abb. 3.34: Kraft-Abstands-Kurven aus einer AFM-Kraft-Karte auf einer mit Zitronensäureestern belegten Partikeloberfläche (links) sowie auf einer unbelegten Partikeloberfläche (rechts)	74
Abb. 3.35: Sauterdurchmesser und spezifische Oberfläche der Saccharosepartikel nach der Zerkleinerung und Adsorption von Emulgatoren	76

Abb. 3.36: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett der Saccharosepartikel aus den Suspensionen mit Emulgatorzusatz nach Kugelmühlengerkleinerung der Saccharose (Kugel-Ø 1,5 cm)	76
Abb. 3.37: Vergleich von Gleichgewichtviskosität und Fließgrenze von Kakaobutter-Saccharose-Suspensionen ohne und mit verschiedenen Emulgatorzusätzen. Zerkleinerung der Saccharose mit Kugelmühle (Kugel-Ø 1,5 cm)	77
Abb. 3.38: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme mit AFM Topographie eines Saccharosepartikels abgetrennt aus einer mit PGPR (links) und einer mit Sojalecithin (rechts) hergestellten Modellsuspension	79
Abb. 3.39: Graphische Veranschaulichung der Wirkungsweise von PGPR	81
Abb. 3.40: Konzentrationsabhängigkeit der Fließeigenschaften von der PGPR Zugabe, Anteile bezogen auf den Saccharosegehalt	82
Abb. 3.41: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett durch die Saccharosepartikel aus den Suspensionen mit unterschiedlichem PGPR-Zusatz nach Zerkleinerung der Saccharose (Kugelmühle, Kugel-Ø 1,5 cm)	83
Abb. 3.42: Reihenfolge der Auswirkung auf die jeweiligen Eigenschaften in Bezug auf die Anwendung unterschiedlicher Emulgatoren in Modellsuspensionen.....	84
Abb. 3.43: Oberflächentopographie von mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerter Saccharose nach Anlagerung von Emulgatoren eines Emulgatorgemisches, Bildgröße 2 x 2 µm.....	85
Abb. 3.44: Oberflächentopographie von mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerter Saccharose nach Anlagerung von Emulgatoren eines Emulgatorgemisches, Bildgröße 2 x 2 µm.....	86
Abb. 3.45: Grenzflächenbelegung nach Anlagerung von Emulgatorgemischen auf den mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln, Zahlen geben den prozentualen Gehalt des adsorbierten Emulgators in Bezug auf die eingesetzte Gesamtmenge an	87
Abb. 3.46: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett an den Saccharosepartikeln aus den Suspensionen mit Zusatz von Emulgatorgemischen und Einzelsubstanzen nach Zerkleinerung der Saccharose mittels Kugelmühle.....	89
Abb. 3.47: Vergleich der Fließgrenze und Gleichgewichtviskositäten von Kakao-butter-Saccharose-Suspensionen mit verschiedenen Emulgatorgemischen, Zerkleinerung der Saccharose mittels Kugelmühle, Kugel-Ø 1,5 cm.....	90
Abb. 6.1: Versuchsaufbau zur Messung an Stickstoffatmosphäre, Closed Fluid Cell	108
Abb. 6.2: Versuchsaufbau zur Messung an kontrollierter Umgebungsfeuchte, Humidity Sensing Cell.....	111
Abb. 6.3: Schema der Festphasenextraktion, EM = Elutionsmittel, Erl. im Text.....	118

Abb. 6.4:	Schema zur Abtrennung der Grenzschicht von den Saccharosepartikeln, hellgelb = Kakaobutter, rot/blau = Saccharosepartikel mit unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften, grüne Quader = adsorbierte Emulgatormoleküle	120
Abb. 8.1:	Ergebnis der Partikelgrößenanalyse der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Kugelmühle (\varnothing 0,8 cm) zerkleinert wurden	131
Abb. 8.2:	Ergebnis der Partikelgrößenanalyse der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Schlagmühle zerkleinert wurden	131
Abb. 8.3:	Ergebnis der Partikelgrößenanalyse der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Walze zerkleinert wurden	131
Abb. 8.4:	Veränderung der Adhäsivität durch Spitzenabnutzung einer Siliziumspitze auf Glimmer gemäß Kap. 6.4.6.2, bestimmt aus den Mittelwerten der Histogramme von 70 Kraftkarten ($2 \times 2 \mu\text{m}$) mit je 10×10 Messungen auf ein und demselben Oberflächenbereich.....	132
Abb. 8.5:	Veränderung der Adhäsivität durch Spitzenabnutzung einer Siliziumspitze auf Saccharose gemäß Kap. 6.4.6.2, bestimmt aus den Mittelwerten der Histogramme von 23 Kraftkarten ($1 \times 1 \mu\text{m}$) mit je 30×30 Messungen auf ein und demselben Oberflächenbereich	132
Abb. 8.6:	DSC-Messung von a) amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 und b) amorpher Saccharose nach 2 min in Aceton und anschließender Trocknung unter Stickstoffatmosphäre, erster Peak = Glasübergang, zweiter Peak = Rekristallisation, das Fehlen beider Peaks in Kurve b) zeigt, dass die amorphe Saccharose durch das Aceton vollständig rekristallisiert wurde	133
Abb. 8.7:	DSC-Messung von amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 nach 2 min in Hexan und anschließender Trocknung unter Stickstoffatmosphäre erster Peak = Glasübergang, zweiter Peak = Rekristallisation.....	134
Abb. 8.8:	DSC-Messung von amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 nach 5 Minuten Lagerung an Propanoldampf analog Kap. 6.4.6.1, erster Peak = Glasübergang, zweiter Peak = Rekristallisation.....	135
Abb. 8.9:	DSC-Messung von amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 nach 5 Stunden Lagerung über gesättigter LiCl-Lösung ($rH \sim 11\%$), erster Peak Glasübergang, zweiter Peak = Rekristallisation.....	136
Abb. 8.10:	DSC-Messung von Glucose wasserfrei, Doppelbestimmung, Peak = Schmelzen des Saccharids	137
Abb. 8.11:	DSC-Messung von Maltose Monohydrat, Doppelbestimmung, Peak = Schmelzen des Saccharids	138
Abb. 8.12:	DSC-Messung von Saccharose, Doppelbestimmung, Peak = Schmelzen des Saccharids	139
Abb. 8.13:	links: AFM-Amplitudenbild und rechts AFM-Höhenbild einer mit Zitronensäureester belegten Saccharosepartikeloberfläche, rote Pfeile: Scanartefakte hervorgerufen durch eine Steilkante, aufgrund von Reibung der Messspitze an dieser Kante entsteht eine Verdopplung der Signale	140

Abb. 8.14: Querschnitt entlang der roten Linie aus Abb. 8.13, roter Pfeil: das Fehlen von Stufen an dieser Stelle zeigt, dass die in Abb. 8.13 links dargestellten Strukturen Scanartefakte sind	140
Abb. 8.15: Vergleich der Grenzflächenbelegung nach Anlagerung unterschiedlicher Gesamtkonzentrationen von Emulgatormischungen auf den mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln	142
Abb. 8.16: Vergleich der makroskopischen Eigenschaften nach Einsatz unterschiedlicher Gesamtkonzentrationen von Emulgatormischungen in den mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten Suspensionen	142

Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1:	Zusammensetzung der für die Untersuchungen eingesetzten Lecithine (Chocotop analysiert durch SpectralService GmbH, Köln, LeciStar S 100 analysiert nach Kap. 6.5.1).....	5
Tab. 1.2:	Charakterisierung der Fettsäureverteilung von ZSE, angegeben sind Hauptkomponenten >1%.....	8
Tab. 1.3:	HLB-Werte von Emulgatoren und entsprechende technische Anwendung [34].....	9
Tab. 1.4:	Viskositäten von Newtonschen Fluiden [53]	16
Tab. 3.1:	Glasübergangs- und Schmelztemperaturen an den LTA-Messpunkten aus Abb. 3.13, Messunsicherheit jeweils $\pm 7\text{ }^{\circ}\text{C}$	49
Tab. 3.2:	Grenzflächenbelegung der mit Emulgator belegten Partikeloberflächen, die Standardabweichung ist angegeben nach Kap. 6.5.....	70
Tab. 3.3:	Schichtdicken der Emulgatorbelegung von Saccharosepartikeloberflächen mit Standardabweichung (n = max. 10800 aus insgesamt 3 Karten je Probe)	75
Tab. 6.1:	Charakterisierung der eingesetzten Kakaobutter hinsichtlich ausgewählter Parameter	99
Tab. 6.2:	Zusammensetzung der für die Untersuchungen eingesetzten Lecithine (Chocotop analysiert durch SpectralService GmbH, Köln, LeciStar S 100 analysiert nach Kap. 6.5.1).....	100
Tab. 6.3:	Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Kugelmühlenerkleinerung anhand der Auswertung der Partikelgrößenverteilung bestimmt nach Kap. 6.4.1, Berechnung der Standardabweichung aufgeführter Parameter	103
Tab. 6.4:	Messvorschrift für die rheologischen Untersuchungen an feinzerkleinerten Suspensionen	107
Tab. 6.5:	Schema zum Ansetzen der Kalibriergeraden für die Zitronensäureester-Bestimmung in der abzentrifugierten Lipidphase der Saccharose-Kakaobutter-Suspensionen mit ZSE-Zusatz von 1g/10 mL Chloroform / Methanol (2:1, v/v)	117
Tab. 6.6:	Schema zum Ansetzen der Kalibriergeraden für die Kakaobutter-Bestimmung in der Grenzschicht der Saccharosepartikel.....	120

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

$\langle x^2 \rangle$	mittlere quadratische Auslenkung
°C	Grad Celsius
A	Fläche
Å	Angström
Abb.	Abbildung
AFM	Rasterkraftmikroskopie (<i>Atomic Force Microscopy</i>)
A _{sp}	spezifische Grenzfläche
b	Dicke
c	Konzentration
CL	Citratlyase
D	Auslenkung
D[3,2]	Sauterdurchmesser
DC	Dünnschichtchromatographie
DIL	Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.
DSC	Dynamische Differenzkalorimetrie (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
E	Energie
EW	Einwaage
EZ	Elementarzelle
F	Kraft
FID	Flammenionisationsdetektor
g	Erdbeschleunigung
GMO	genetisch veränderter Organismus (<i>genetically modified organism</i>)
HLB	<i>hydrophilic-lipophilic-balance</i>
HPTLC	Hochleistungs-dünnschichtchromatographie (<i>High Performance Thin Layer Chromatography</i>)
k	Federkonstante
Kap.	Kapitel
k _B	Boltzmann-Konstante
KB	Kakaobutter
KOH	Kalilauge
LiCl	Lithiumchlorid
L-LDH	L-Lactat-Dehydrogenase
L-MDH	L-Malat-Dehydrogenase
LPC	Lysophosphatidylcholin
LPE	Lysophosphatidylethanolamin

LTA	lokale thermische Analyse
m_{azF}	Menge an Überstand = abzentrifugierbares Fett
M_D	Drehmoment
M_g	Molmasse, gesamt
M_h	Molmasse, hydrophiler Molekülteil
m_{IFS}	flächenbezogene Masse des immobilisierten Fettes
M_l	Molmasse, lipophiler Molekülteil
MS	Modellsuspension
m_{spB}	spezifische Belegung der Saccharosegrenzfläche
n	Anzahl bzw. Drehzahl
n.n.	nicht nachweisbar
NaCl	Natriumchlorid
NAD ⁺	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduziert
Ø	Durchmesser
p.a.	pro analysi
PA	Phosphatidylsäure
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PGPR	Polyglycerin-Polyricinolat
pH	potential hydrogenii
PI	Phosphatidylinositol
PL	Phospholipid
R^2	Korrelationskoeffizient
R_a , R_i	Radius außen bzw. Radius innen
REM	Rasterelektronenmikroskopie
rH	relative Luftfeuchtigkeit (<i>relative humidity</i>)
Sac	Saccharose
SBL	Sonnenblumenlecithin
Sojalec	Sojalecithin
SPE	Festphasenextraktion (<i>solid phase extraction</i>)
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
T_g	Glasübergangstemperatur
TLC	Dünnschichtchromatographie (<i>Thin Layer Chromatography</i>)
UV	Ultraviolett

x_{IFS}	immobilisierter Fettanteil
$\dot{\gamma}$	Scherrate
ZSE	Zitronensäureester
γ	Deformation
η	Viskosität
η_{∞}	Gleichgewichtsviskosität
ρ	Dichte
τ	Schubspannung
τ_0	Fließgrenze
Ω	ohmscher Widerstand

1 Einleitung

1.1 Lipophile Suspensionen – Schokoladenmassen

Schokoladenmassen sind disperse Systeme. Sie bestehen aus einer lipophilen kontinuierlichen Kakaobutterphase und einer dispersen Phase aus Feststoffpartikeln wie Milchpulver, Kakaofeststoff und Zuckerpartikeln [1]. Diese Feststoffe werden zerkleinert, sodass eine Vielzahl unterschiedlicher Grenzflächen entsteht. Die Vorgänge an diesen Grenzflächen wie beispielsweise die Wechselwirkungen mit der Kakaobutterphase sowie die Stabilisierung der dispersen Phase durch Emulgatoren sind für die Herstellung von Schokolade von großer Bedeutung.

Herstellung von Schokolade

Die industrielle Herstellung von Schokolade ist ein mehrstufiger Prozess, bei dem zunächst Rohkakao zu einer Kakaomasse verarbeitet wird. Diese wird zur Gewinnung von Kakaobutter und Kakaopulver oder zur Herstellung von Schokolade verwendet. Je nach gewünschtem Produkt wird die Kakaomasse dann auf unterschiedliche Feinheitsgrade zerkleinert. Für die Herstellung von Schokoladenmassen wird eine maximale Partikelgröße von 15 – 30 µm angestrebt. Größere Partikel würden sich beim Verzehr der Schokolade durch ein sandiges Mundgefühl bemerkbar machen [2]. Daran wird deutlich, dass bereits die Herstellung der Schokoladenmassen eine wichtige und anspruchsvolle Verfahrensstufe der Schokoladenproduktion ist [3]. Über die Rezeptur und die Verarbeitungseigenschaften werden besondere Qualitätsmerkmale sowie der sog. Hausgeschmack der späteren Schokolade entscheidend beeinflusst. Besondere Bedeutung kommt dabei dem Prozess der Feinzerkleinerung und dem Conchieren dieser Massen zu.

Zerkleinerung der Schokoladenmassen

Die für die Schokoladenherstellung meist verwendete Zerkleinerungsart ist die Walzenzerkleinerung. Die Art des Zerkleinerns unterscheidet sich dabei sehr stark von anderen Zerkleinerungsmethoden wie z.B. der Vermahlung in Kugelmøhlen. Bei der Walzenzerkleinerung werden sowohl die Feststoffe als auch gebildete Agglomerate zwischen zwei Walzen durch Druck und Scherung deformiert und in Abhängigkeit von der Spaltbreite auf eine maximale Größe zerkleinert. Durch die vergleichsweise große Oberfläche der Walze findet eine gute Wärmeabfuhr statt, wodurch das Walzgut optimal gekühlt wird. Die thermische Belastung ist auf ein Minimum reduziert. Die Walzenzerkleinerung findet kontinuierlich statt, was durch unterschiedliche Rotationsge-

schwindigkeiten der Walzen ermöglicht wird. Dadurch wird ein Schergefälle im Walzspalt erzeugt und das Walzgut wird auf die folgende, schneller laufende Walze übertragen [4].

Eine Alternative zur Walzenzerkleinerung ist die Zerkleinerung mit der Kugelmühle. Hierbei werden die Feststoffpartikel zwischen einzelnen Kugeln oder zwischen Kugel und Mühlenwandung zerschlagen bzw. gebrochen. Gleichzeitig erfolgt eine Durchmischung. Dadurch verkürzt sich die Bearbeitung der Massen, weniger Energie wird benötigt und Kosten werden gespart. Um die Kugelmühlenzerkleinerung kontinuierlich zu betreiben, muss die flüssige Schokoladenmasse gepumpt werden. Dies erfordert entsprechend geringere Viskositäten und/oder höhere Fettgehalte [5].

Unabhängig davon, welche Art der Zerkleinerung angewendet wird, entstehen neue Oberflächen in einer lipophilen Phase aus Kakaobutter, die zuvor nicht mit dieser Phase in Berührung gekommen sind. Diese Oberflächen sind in der Schokoladenherstellung von besonderer Bedeutung, beispielsweise in Bezug auf die Fließeigenschaften oder die Adsorption von Aromakomponenten [6,7] (vgl. auch Kap. 1.3).

Conchieren feinzerkleinerter Schokoladenmassen

An die Feinzerkleinerung schließt sich das Conchieren der Schokoladenmassen an. Diese Misch- und Scherbearbeitung dient der abschließenden Veredelung zur Herstellung feinsten Schokoladen mit hoher sensorischer Qualität [3]. Durch das Conchieren werden die zerkleinerten Feststoffpartikel mit Fett überzogen, sodass sie gut aneinander vorbeigleiten können und die Schokolade die charakteristischen Schmelzeigenschaften erhält. Außerdem werden überschüssige Feuchtigkeit, flüchtige Säuren und unerwünschte Aromastoffe entfernt. Die beim Feinwalzen entstandenen Feststoffagglomerate werden aufgelöst und die freien Partikel durch Emulgatoren stabilisiert. Außerdem werden die Fließeigenschaften für die weitere Verarbeitung optimiert [3,8,9].

Einstellung der Fließeigenschaften

Die Fließeigenschaften der Schokoladenmassen werden sowohl durch die flüssige Kakaobutterphase als auch durch die dispersen Feststoffpartikel bestimmt [2]. Für die flüssige Phase sind insbesondere deren Viskosität und der Gehalt an grenzflächenaktiven Substanzen (Emulgatoren) sowie deren Vermögen zur vollständigen Benetzung der Partikeloberfläche von Bedeutung [10]. In stärkerem Maße wird das Fließverhalten jedoch durch den Volumenanteil der Feststoffpartikel und deren Größenverteilung beeinflusst. Zu diesen Themen wurden bereits umfangreiche Untersuchungen durchgeführt (u.a. [2,5,11]).

Sind nun aber die Größe und der Volumenanteil der Partikel gleich, wird das Fließverhalten durch die Partikelform und die Oberflächeneigenschaften der Feststoffe bestimmt. Durch die Oberflächen hydrophiler Partikel kommt es, wenn diese nicht mit Emulgatoren belegt sind, durch hohe freie Grenzflächenenergien zu einer Agglomeration [12]. In den „Toträumen“ der Agglomerate wird ein Teil der kontinuierlichen Phase (Kakaobutter) immobilisiert, die Viskosität der Suspension erhöht sich [10] und durch intensivierte Partikel-Partikel-Kontakte wird eine Fließgrenze ausgebildet [13,14].

Diese makroskopischen Effekte der Fließeigenschaften können durch die Zugabe von Emulgatoren entscheidend beeinflusst werden. Die grundsätzlichen Zusammenhänge wurden in der Literatur bereits eingehend beschrieben (u.a. [15,16,17,18], vgl. auch Kap. 1.2). Auf Grundlage dieser Arbeiten wurde zudem die Einstellung der Fließeigenschaften über die Oberflächenenergien der dispersen Phase untersucht (u.a. [19,20]). Es sollte ein Bezug zwischen den physikalischen Oberflächeneigenschaften der Partikel und deren Wechselwirkung mit der lipophilen Kakaobutter sowie mit Emulgatoren hergestellt werden. Die Bestimmung des immobilisierten Fettanteils an den Saccharosepartikeln und in Toträumen sollte das entscheidende Kriterium zur Minimierung der freien Grenzflächenenergie darstellen. Es wurden daher zum einen die polaren Anteile der Oberflächenenergie, die durch permanente Dipole und Wasserstoffbrücken hervorgerufen werden, bestimmt. Des Weiteren wurde der Anteil an dispersiven Oberflächenbereichen ermittelt, welche auf temporären Schwankungen der Elektronendichte durch induzierte Dipole beruhen. Es konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen den polaren und dispersiven Anteilen der Oberflächenenergien und der Gesamtbelegung der Feststoffe mit Emulgatoren gefunden werden.

1.2 Emulgatoren – Grenzflächenaktive Substanzen

1.2.1 Emulgatoren in der Schokoladenindustrie

Wie bereits beschrieben, müssen für die Schokoladenherstellung zerkleinerte, hydrophile Saccharosepartikel in eine lipophile Phase aus Kakaobutter suspendiert werden. Um eine Feinstverteilung in der Kakaobutter zu erreichen, ist es notwendig, die Partikeloberflächen möglichst vollständig mit Kakaobutter zu sättigen. Die Oberflächen sind jedoch so hydrophil, dass sie sich kaum mit der lipophileren Kakaobutter überziehen und sich die beiden Phasen nicht ohne weiteres miteinander vereinen werden. Um eine Separation der Suspension in die jeweiligen Phasen zu unterbinden, ist der Einsatz von Emulgatoren unerlässlich. Diese beeinflussen so in erster Linie die Verarbeitungseigenschaften der Schokolade. Sie dienen beispielsweise zur Einstellung der Viskosität der flüssigen

Schokoladenmassen für den Verarbeitungsprozess [21,22] oder auch zur Beeinflussung der Fettkristallisation während des Abkühlens und Aushärtens der Massen [23,24].

Für die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Emulgatoren und Saccharosepartikeln sowie ihre Deutung und Bewertung ist es notwendig, die miteinander wechselwirkenden Stoffe möglichst genau zu charakterisieren. So können strukturelle Unterschiede und damit auch Abweichungen in der Molmasse bereits Auswirkungen auf das Verhalten als grenzflächenaktive Substanz hervorrufen. Wie im Folgenden verdeutlicht, stellen die für die Schokoladenherstellung relevanten Emulgatoren jedoch keine definierten Substanzen dar, sondern sie sind Gemische mit teils großen strukturellen Unterschieden.

Lecithin

Der meistverwendete Emulgator in der Schokoladenindustrie ist Lecithin, welches seit 1930 eingesetzt wird [9]. Es ist ein komplexes Gemisch unterschiedlich polarer Lipide wie Phospho- und Glykolipide sowie neutraler Triglyceride, Sterine und Fettsäuren [21]. Phospholipide (PL) sind die wichtigsten Lecithinhaltsstoffe und bestehen aus einem Glycerol-Grundkörper mit ein bis zwei Fettsäureresten. Diese bilden den unpolaren Molekülteil. Der polare Molekülteil besteht aus einem Phosphorsäurerest mit einer sogenannten Kopfgruppe. Die Molekülstruktur ist am Beispiel des Phosphatidylcholins (PC) in Abb. 1.1 dargestellt. Die Kopfgruppe, in diesem Fall Cholin, bestimmt den Namen des Phospholipids (vgl. Abb. 1.2). Die Hauptphospholipide des Lecithins sind Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylinositol (PI), Phosphatidylethanolamin (PE) sowie Phosphatidsäure (PA).

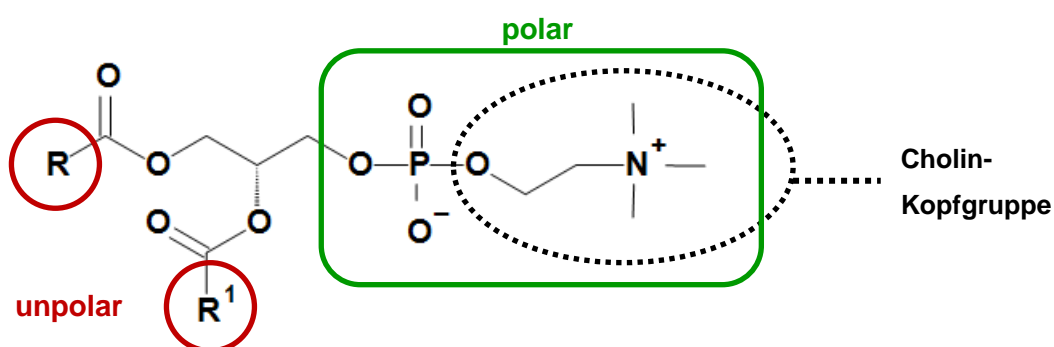


Abb. 1.1: Schematischer Aufbau der Phospholipide am Beispiel des Phosphatidylcholins (PC), R und R1 = Fettsäurereste

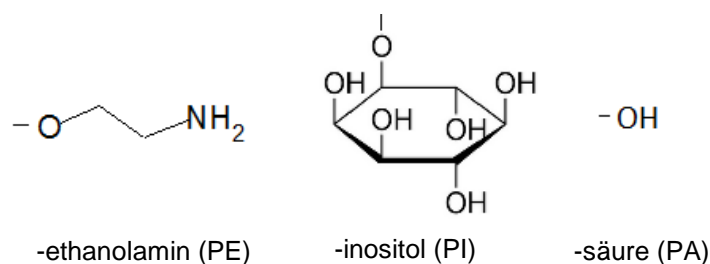


Abb. 1.2: Struktur weiterer möglicher Kopfgruppen, Inositol dargestellt als myo-Inositol

Je nach Quelle des Lecithins, besitzt es eine andere PL-Zusammensetzung. Tab. 1.1 zeigt die Unterschiede in Bezug auf die Hauptkomponenten der Phospholipide eines Soja- und eines Sonnenblumenlecithins. Nicht in der Tabelle aufgeführt sind weitere Bestandteile wie z.B. Sphingomyeline, Glycolipide oder Triglyceride.

Tab. 1.1: Zusammensetzung der für die Untersuchungen eingesetzten Lecithine (Chocotop analysiert durch SpectralService GmbH, Köln, LeciStar S 100 analysiert nach Kap. 6.5.1)

Phospholipid-Fraktion	Gehalt in % (w/w)	
	Sojalecithin Chocotop	Sonnenblumen- lecithin LeciStar S 100
PC - Phosphatidylcholin	14,30	12,97
PI - Phosphatidylinositol	11,62	4,27
PE - Phosphatidylethanolamin	7,99	15,06
PA - Phosphatidsäure	3,99	1,54
LPC - Lysophosphatidylcholin	0,81	2,79
LPE - Lysophosphatidylethanolamin	0,50	n.n.
Gesamtphospholipidgehalt des Lecithins bezogen auf die Hauptkomponenten	39,21	36,63
Nicht-Phospholipide	60,79	63,37

Die mittleren Molekulargewichte der Phospholipidfraktionen sind mit 769 g/mol für Soja- und 734 g/mol für Sonnenblumenlecithin vergleichbar. Aufgrund der verschiedenen Phospholipid-Zusammensetzungen liegt aber der Schluss nahe, dass diese beiden Lecithine auch einen unterschiedlichen Einfluss und eine unterschiedliche Wirkungsweise in Bezug auf ihre Grenzflächenaktivität aufweisen (siehe unten). Die nicht-Phospholipide der Lecithine spielen dabei in der Schokolade eine eher untergeordnete Rolle, da sie lediglich den lipophilen Anteil der Schokoladenmassen erhöhen.

Wie bereits erwähnt beeinflussen Lecithine in starkem Maße die Fließeigenschaften der Schokoladenmassen. Eine Zugabe von 0,1 bis 0,3 % bewirkt bereits einen Effekt, der auch nach Zugabe der zehnfachen Menge von Kakaobutter eintritt [25,26]. Die Phosphatidylcholin-Fraktion des Lecithins jedoch bewirkt dabei eine besonders effektive Reduktion der Viskosität. Dagegen resultiert eine vermehrte Zugabe von Lecithin in einer

starken Erhöhung der Fließgrenze [22], was sich wiederum nachteilig auf die Handhabung der flüssigen Schokoladenmassen im Produktionsprozess auswirkt.

Neben der Art des Emulgators spielt auch der Zugabezeitpunkt zur Schokoladenmasse eine wichtige Rolle. So reduziert eine erst am Ende des Conchierprozesses zugesetzte Menge Lecithin die Fließgrenze in stärkerem Maße, als die gleiche Menge am Anfang des Prozesses eingesetzt. Zu Beginn des Conchierens wird das Lecithin sofort an die Kakaopartikel adsorbiert und ist daher nicht mehr in der Lage, die Oberfläche der Saccharosepartikel zu belegen. Die Adsorption des Lecithins wird zudem durch den Mischeffekt des Conchiervorgangs begünstigt [9,27].

Polyglycerin-Polyricinoleat (PGPR)

Neben Lecithin wird vermehrt auch der synthetische Emulgator Polyglycerin-Polyricinolat (PGPR) eingesetzt. PGPR ist eine Verbindung aus Glycerol sowie der oligomerisierten Hydroxyfettsäure Ricinolsäure (C18:1, (9Z,12R)-12-Hydroxy-9-octadecensäure)) mit der allgemeinen Summenformel $(C_3H_5O_2)_n(C_{18}H_{32}O_2)_m$. Durch die Hydroxygruppe in der Mitte der Fettsäurekette ergibt sich die Möglichkeit der Vernetzung über eine Ester-Bindung (Abb. 1.3).

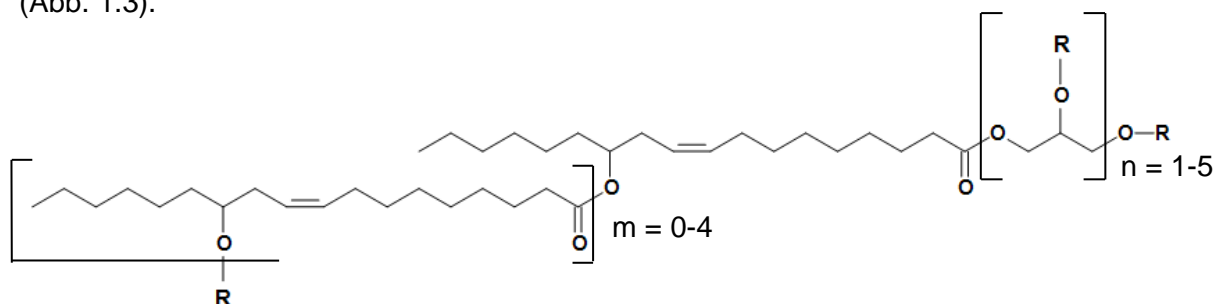


Abb. 1.3: Grundstruktur von PGPR (schematisch) mit R = H, Fettsäure- oder Polyzinolfettsäurerest, in Anlehnung an [30]

Die mittlere Molmasse des hochverzweigten und komplexen PGPR ist in der Literatur mit 1200 - 2000 g/mol angegeben [28,29] und demnach um ein Vielfaches größer als die der Phospholipidfraktionen von Soja- und Sonnenblumenlecithin.

Seine Wirkung äußert sich in erster Linie in einer starken Reduzierung oder sogar Aufhebung der Fließgrenze. Ein Zusatz von 0,2 % kann die Fließgrenze im Vergleich zu Lecithin um die Hälfte senken; ab einem Gehalt von 0,8 % ist die Fließgrenze aufgehoben. Daher wird häufig eine Kombination von Lecithin und PGPR eingesetzt, um die für die Verarbeitung gewünschten optimalen Fließeigenschaften flüssiger Schokoladenmassen einzustellen [31]. Mischungen von PGPR und Lecithin sind bereits kommerziell erhältlich. Jedoch hängt das optimale Mischungsverhältnis dieser Emulgatoren stark von den Verarbeitungsbedingungen und den gewünschten Produkteigenschaften ab, sodass keine allgemeingültigen Empfehlungen diesbezüglich gegeben werden können [9]. Die

Auswirkungen des PGPR-Einsatzes sind wie bereits beschrieben gut bekannt, allerdings liegen kaum Erkenntnisse zu deren Ursachen vor. Die Funktion des PGPRs in Schokolade wird meist basierend auf den von Lecithin bekannten Wirkungsmechanismen (Wechselwirkung mit der Oberfläche und resultierende Erniedrigung der Oberflächenspannung) erklärt.

Zitronensäureester mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren (ZSE)

Weitere wichtige, in der Schokoladenindustrie eingesetzte Emulgatoren, sind Zitronensäureester [32]. Als Zitronensäureester werden die Ester der Zitronensäure mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren, in der Regel auf Basis von Pflanzenölen, bezeichnet (vgl. Abb. 1.4). Aufgrund von polaren Anteilen des Citrats und unpolaren Anteilen der Fettsäurereste besitzen diese Verbindungen ebenfalls emulgierende, oberflächenaktive Eigenschaften.

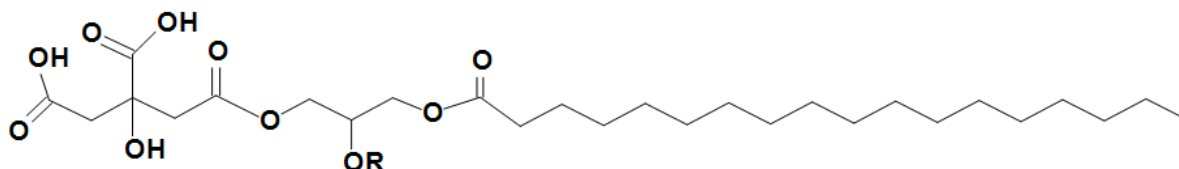


Abb. 1.4: Beispiel eines Emulgators auf Basis Zitronensäureester, R = -H oder Fettsäurerest

Neben dem gezeigten Aufbau aus einem Monoglycerid und einem Zitronensäuremolekül existieren auch Verbindungen mit zwei Säuremolekülen sowie einem Diglycerid mit einer Zitronensäure. Weiterhin kann die Zitronensäure ebenfalls mit mehreren Glyceriden sowie die Hydroxysäure auch mit weiteren Fettsäuren verestert sein.

Der Zitronensäure-Anteil solcher technischen Gemische kann in einem Bereich von 13 bis 50 % (w/w) variieren. Für das in dieser Arbeit verwendete Gemisch wurde ein Zitronensäuregehalt von mindestens 13 % angegeben (vgl. Kap. 6.1). Die enzymatische Bestimmung gemäß Kap. 6.5.3 bestätigte diesen Wert. Der Gehalt an Mono- und Diglycerid-Fettsäureestern beträgt demnach 87 %, das Verhältnis von Mono- zu Diglyceriden liegt bei etwa 20 : 80. Die Fettsäureverteilung wurde gemäß Kap. 6.5.5 bestimmt und ist in Tab. 1.2 aufgeführt.

Tab. 1.2: Charakterisierung der Fettsäureverteilung von ZSE, angegeben sind nur die Hauptkomponenten >1%

Parameter	Verfahren	Gehalt [g/100g ZSE]
Palmitinsäure C 16:0	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	4,8
Stearinsäure C 18:0	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	3,0
Ölsäure C 18:1	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	83,2
Linolsäure C 18:2	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	6,4
Summe Hauptfettsäuren		97,6
Summe weiterer Fettsäuren		2,6

Durch oben erwähnte Kondensationsreaktionen ist die Abschätzung einer mittleren Molmasse für dieses komplexe Gemisch kaum möglich. Jedoch kann, unter der Annahme, dass ein Molekül Glycerin (92 g/mol) im Mittel mit 1,5 Fettsäuren (1,5 x 280 g/mol, unter Berücksichtigung von Tab. 1.2) sowie einem Zitronensäuremolekül (192 g/mol) verestert ist, eine grobe Schätzung der mittleren Molmasse erfolgen. Sie beträgt für diesen Fall 748 g/mol und ist von der Größenordnung mit der mittleren Molmasse der Phospholipide vergleichbar.

1.2.2 Wirkungsweise ausgewählter Emulgatoren

Wie bereits beschrieben besitzen Emulgatoren eine polare, hydrophile Kopfgruppe und einen unpolaren, lipophilen Molekülteil, der oft aus einer mehr oder minder langen Alkylkette besteht. Der Emulgator ist daher als amphiphiles Molekül in der Lage, die Grenzfläche zwischen zwei nicht miteinander mischbaren Phasen zu belegen und vermindert dadurch die Grenzflächenspannung. So wird die entstehende Suspension stabilisiert und eine Agglomeratbildung sowie Trennung der Suspension in die einzelnen Phasen verhindert [15,16,33].

HLB-Wert-Konzept

Der sogenannte HLB-Wert (hydrophile-lipophile balance) ist nun ein Maßstab, mit dem die Wirksamkeit der hydrophilen und lipophilen Gruppe von Emulgatoren über deren Masseverhältnis beschrieben werden kann [34]. Hierzu wird die gesamte Molmasse M_g des Moleküls in den jeweiligen Anteil der hydrophilen Gruppe M_h und der lipophilen Gruppe M_l aufgeteilt:

$$M_g = M_h + M_l \quad (1)$$

dividiert durch M_g folgt:

$$1 = \frac{M_h}{M_g} + \frac{M_l}{M_g} \quad (2)$$

und nach M_h/M_g aufgelöst ergibt sich:

$$\frac{M_h}{M_g} = \left(1 - \frac{M_l}{M_g}\right) \quad (3)$$

Der HLB-Wert beruht auf einer willkürlich festgelegten Bewertungsskala, die sich vom Wert 0 bis zum Wert 20 erstreckt. Der Quotient M_h/M_g wird nun als HLB-Wert definiert und somit ergibt sich [35]:

$$HLB = 20 \left(1 - \frac{M_l}{M_g}\right) \quad (4)$$

Ein Emulgator mit stark lipophilem Charakter erhält nach diesem Konzept einen geringen HLB-Wert und eine stärker hydrophile Substanz erhält einen höheren Wert. Bei Werten von 0 - 9 ist der Emulgator eher in lipophilen Substanzen löslich und stabilisiert daher bevorzugt disperse Systeme vom Typ W/O (Wasser-in-Öl). Bei einem HLB-Wert von 11 - 20 besitzt der Emulgator eher eine Affinität zu hydrophilen Substanzen und stabilisiert daher bevorzugt disperse Systeme vom Typ O/W (Öl-in-Wasser). Beim HLB-Wert 10 liegt wiederum ein Gleichgewicht vor; der Emulgator ist gleichermaßen gut in lipophilen und hydrophilen Phasen löslich.

Mit Hilfe des HLB-Wertes kann somit eine Klassifizierung von Emulgatoren erfolgen, wodurch wiederum deren Verhalten als grenzflächenaktive Substanz näher charakterisiert werden kann. Diese Klassifizierung ist in Tab. 1.3 aufgeführt.

Tab. 1.3: HLB-Werte von Emulgatoren und entsprechende technische Anwendung [34]

HLB-Bereich	Anwendung
1 bis 6	W/O-Emulgator (→ z.B. Lecithin für Schokolade)
7 bis 9	Netzmittel, Feuchthaltemittel
8 bis 18	O/W-Emulgator (→ z.B. Polysorbate 60 für Karamell)
13 bis 15	Detergenzien
15 bis 18	Lösungsvermittler

Der HLB-Wert des verwendeten PGPR liegt laut Herstellerangaben bei ca. 1,5, der Wert für die Zitronensäureester ist mit 3 - 4 angegeben. Der HLB Wert von Lecithin liegt bei 4 (vgl. Kap. 6.1). Somit können alle im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Emulgatoren dem HLB-Bereich 1 bis 6 zugeordnet werden. Sie sind demnach zur Stabilisierung von dispersen Systemen vom Typ W/O (z. B. Schokolade) geeignet.

Vergleich des Wirkungsmechanismus von Lecithin und PGPR

Bei Anwendung des HLB-Konzeptes in der Praxis ist jedoch zu beachten, dass ebenfalls Wechselwirkungen des Emulgators mit den weiteren Bestandteilen der Lebensmittelmatrix stattfinden. Auch wenn z.B. das optimale Verhältnis in einem Gemisch aus Lecithin und PGPR zur Einstellung der Fließeigenschaften bereits eingehend untersucht wurde [30,31,33,36], müssen diese Emulgatoren sowie die einzusetzende Menge heute immer noch aufgrund empirischer Erfahrungen ausgewählt werden. Dies liegt nicht zuletzt an der Tatsache, dass der Wirkungsmechanismus, insbesondere der des PGPR, nicht im Detail aufgeklärt ist.

In Abb. 1.5 ist zunächst die allgemeine Wirkungsweise des Lecithins in einer modellhaften Schokoladenmasse verdeutlicht. In der flüssigen Phase aus Kakaobutter und Lecithin werden zerkleinerte Saccharosepartikel dispergiert. Ihre Oberflächen besitzen im Gegensatz zur stark lipophilen Kakaobutter einen hydrophilen Charakter, wodurch sie mit der hydrophilen Kopfgruppe des Lecithinmoleküls in Wechselwirkung treten. Die lipophilen Molekülteile der Phospholipide ragen dabei in die lipophile Kakaobutter hinein, wohingegen die Kopfgruppe zur hydrophilen Saccharosepartikeloberfläche ausgerichtet ist. Auf diese Weise werden die Partikel über hydrophob-hydrophob-Wechselwirkungen der Alkylketten voneinander separiert (sterische Hinderung) [15,17].

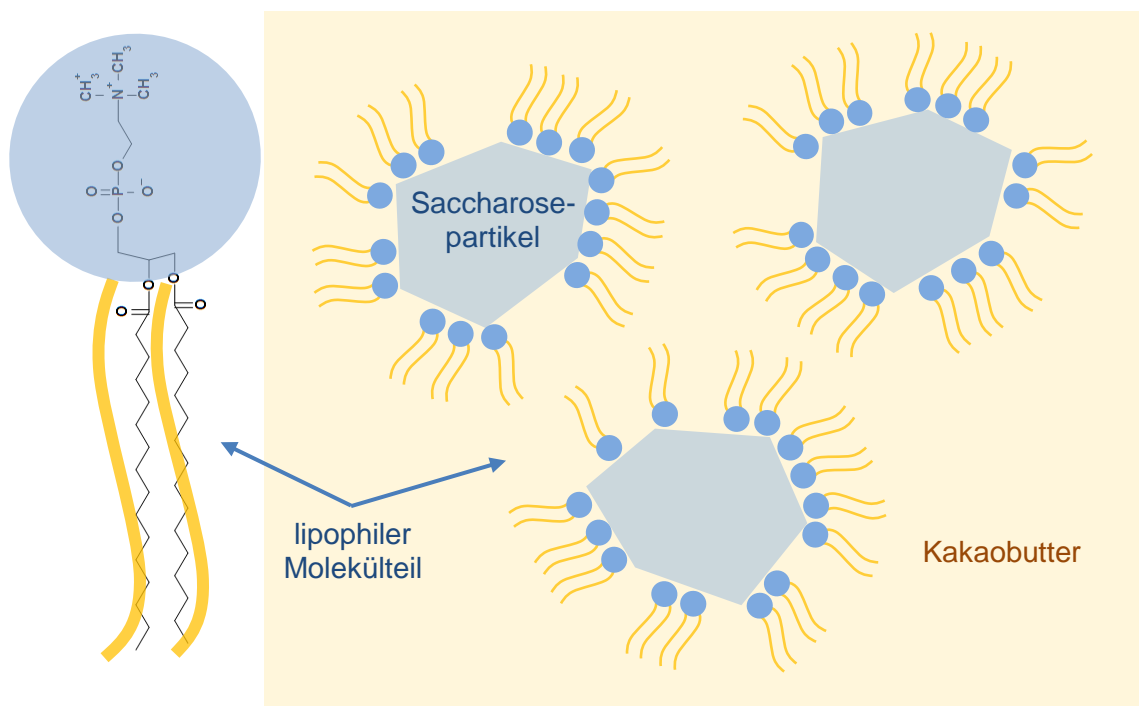


Abb. 1.5: Graphische Veranschaulichung von Saccharosepartikeln belegt mit der Lecithinfraktion Phosphatidylcholin, in Anlehnung an [9]

Zur Erklärung der Wirkungsweise des PGPR wurden ebenfalls einige Ansätze veröffentlicht, eine vollständige Klärung des Mechanismus war bisher jedoch nicht möglich [26,37]. Aufgrund seiner molekularen Struktur (vgl. Abb. 1.3) basiert eine Hypothese auf der Separation der mit PGPR belegten Saccharosepartikel ähnlich der Wirkungsweise des Lecithins. Vernier sowie Dedinaite und Campbell [38,39] beschrieben, dass die PGPR Moleküle mit ihren hydrophilen Molekülteilen an die Feststoffoberflächen der Saccharosepartikel adsorbieren, während die lipophilen Molekülteile in die Kakaobutter hineinragen. Auf diese Weise stoßen sich die langen Ricinolsäureketten voneinander ab, sodass aufgrund der sterischen Hinderung eine Partikelaggregation vermieden wird. Eine andere Hypothese beschreibt den Mechanismus als PGPR Anlagerung auf den Partikeloberflächen, welche zusätzliche Kakaobutter in die kontinuierliche Phase verdrängt. Dadurch wiederum wird die Fließgrenze herabgesetzt. Im Gegensatz zu Lecithin wird nach Auffassung von Schantz und Rohm [31] durch das PGPR keine Struktur in der kontinuierliche Phase aufgebaut, aber ihr Volumen vergrößert. Bisher konnte jedoch keine dieser Theorien vollständig bestätigt werden.

1.3 Saccharose

Neben den Emulgatoren, Milchpulver, Kakaofeststoffen und Kakaobutter ist Saccharose der Hauptbestandteil von Schokoladen. Es ist aus je einer α -D-Glucopyranose- und einer β -D-Fructofuranoseeinheit aufgebaut, die über eine α,β -1,2-glycosidische Bindung miteinander verknüpft sind (vgl. Abb. 1.6). Saccharose ist ein nicht reduzierender Zucker. Die Glykosidbindung zwischen den beiden Einheiten entsteht durch Kondensation der beiden Halbacetal-Hydroxygruppen, so dass letztlich beide Carbonylfunktionen durch diese Bindung blockiert sind [40].

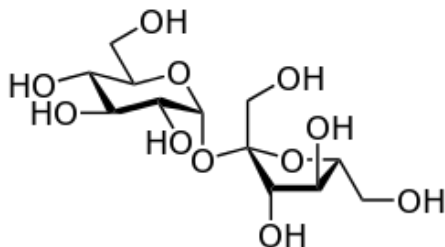


Abb. 1.6: Molekulare Struktur der Saccharose: β -D-Fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranosid

Saccharose bildet kristalline Strukturen, die in Form von Lagen aufgebaut sind. Abb. 1.7 verdeutlicht diesen Aufbau, bei dem das Saccharosemolekül als abgeschrägter, schiefer Quader dargestellt ist. Die Abmessungen dieses Quaders betragen $a = 7,16 \text{ \AA}$, $b = 8,69 \text{ \AA}$ und $c = 7,77 \text{ \AA}$, der Winkel der Schiefe liegt bei 103° ([41,42,43]).

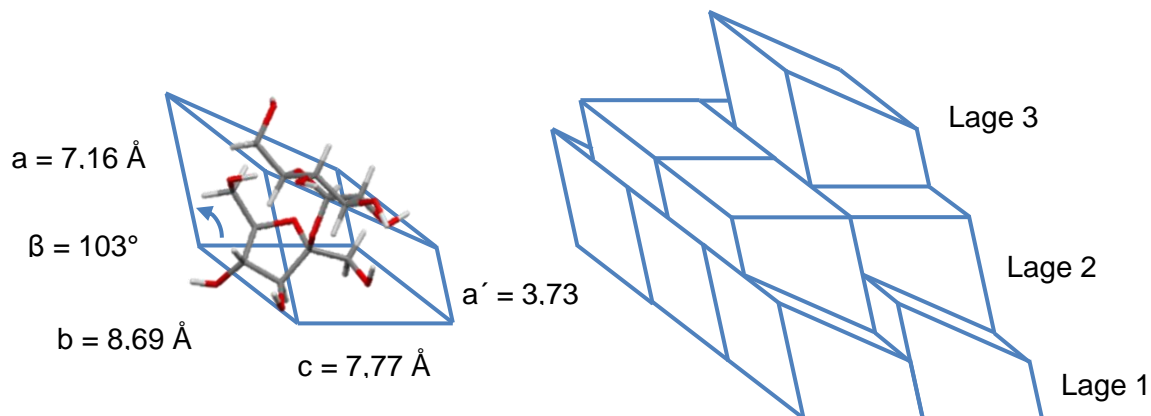


Abb. 1.7: links: Abmessungen und Geometrie eines Saccharosemoleküls, rechts: Aufbau des Kristallgitters aus Saccharosemolekülen, schematische Darstellung in Anlehnung an [43]¹

Der Lagenaufbau erfolgt auf alternierende Weise, sodass die Oberflächenstruktur jeder zweiten Lage eine Ebene darstellt. Durch die einzelnen Saccharosemoleküle und ihre räumliche Orientierung wird die kristallographische Elementarzelle (EZ) definiert. Sie beinhaltet je zwei miteinander assoziierende Saccharosemoleküle. Ihre Maße betragen $a_{EZ} = 10,89 \text{ \AA}$, $b_{EZ} = 8,69 \text{ \AA}$, $c_{EZ} = 7,77 \text{ \AA}$ sowie $\beta_{EZ} = 103^\circ$ [42], die Höhe von zwei übereinander liegenden Molekülen (zwei Lagen = a_{EZ}) beträgt demnach ca. $10 \text{ \AA} = 1 \text{ nm}$.

Die Position des einzelnen Saccharosemoleküls sowie die Orientierung in der Elementarzelle sind in Abb. 1.8 unter verschiedenen Winkeln dargestellt [43,44,45]. Zur räumlichen Orientierung sind in den linken Abbildungen jeweils die Flächen der Elementarzelle mit rot gepunkteter Linie sowie die Ausdehnung der Saccharosemoleküle aus Abb. 1.7 in blau dargestellt. In den rechten Abbildungen sind die Elementarzelle mit roten Linien und die Ausdehnung der Saccharosemoleküle mit blau gepunkteten Linien dargestellt.

¹ Kristalldaten nach [99], zur Darstellung in Mercury 3.0 heruntergeladen von der Seite <http://www.ccp14.ac.uk/ccp/ccp14/ftp-mirror/platon-spek/pub/special/sucrose.cif>, zuletzt aufgerufen am 24.11.2014

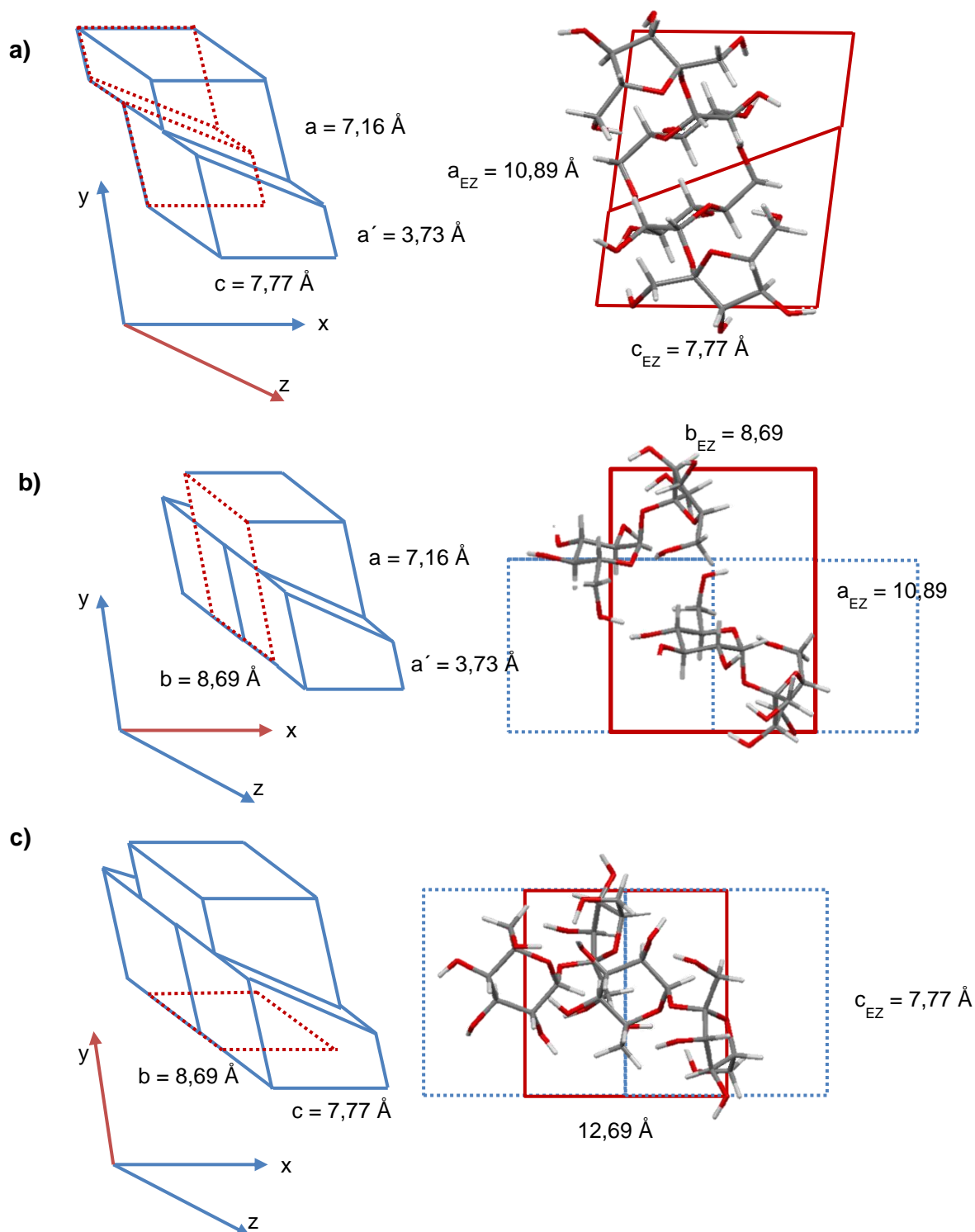


Abb. 1.8: Saccharosemoleküle links sowie daraus gebildete Elementarzelle (Index EZ) rechts Darstellung a) entgegen der z-Richtung; b) entlang der x-Richtung, c) entlang der y-Richtung.

Anhand dieser Abbildungen wird deutlich, dass je nach betrachtetem Oberflächenbereich unterschiedliche Molekülteile der Saccharose zur Kristalloberfläche hin ausgerichtet sind. Gerade das Aufbrechen einer gewachsenen, thermodynamisch begünstigten Kristallstruktur durch eine mechanische Zerkleinerung trägt dazu bei, strukturell unterschied-

liche Oberflächenbereiche hervorzubringen. Die damit einhergehende Veränderung der Oberflächencharakteristik und die daraus resultierenden veränderten Wechselwirkungen mit grenzflächenaktiven Substanzen und Kakaobutter spielen im Rahmen der Schokoladenherstellung eine wichtige Rolle [6,7].

In seinem ursprünglichen hochgeordneten Zustand liegt Saccharose in kristalliner Form vor. Die Moleküle befinden sich in einem Kristallgitter mit einer sog. Nah- und Fernordnung. Wie bereits erläutert, wird jedoch durch den Zerkleinerungsprozess insbesondere die Oberflächenstruktur der Saccharose beeinflusst, sodass die Partikel eine amorphe Oberfläche erhalten [46]. Im amorphen Zustand ist jedoch die Nahordnung der Moleküle nicht mehr gegeben, der Zustand ist ungeordnet (vgl. Abb. 1.9).

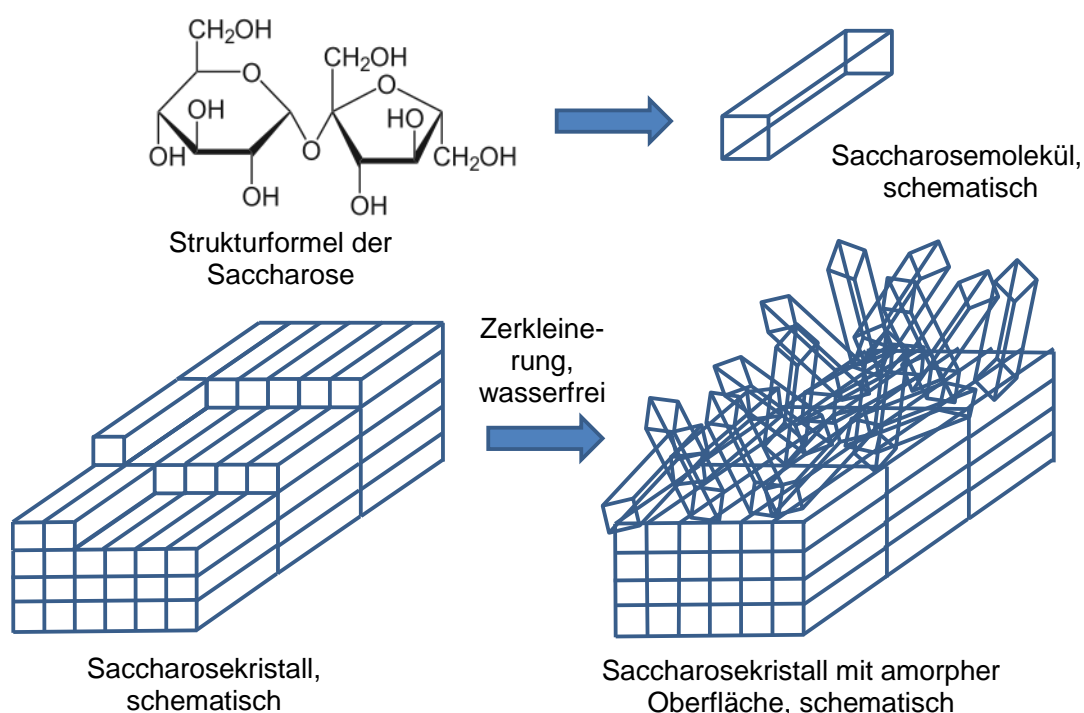


Abb. 1.9: Schematische Darstellung der Amorphisierung durch Zerkleinerung

Diese amorphen Oberflächen sind extrem hygroskopisch, sodass dieser Oberflächenzustand sehr instabil ist und leicht rekristallisiert. Eine erhöhte Temperatur und/oder erhöhte Luftfeuchtigkeit erleichtern diesen Prozess. Durch die Feuchtigkeit der Luft wird die molekulare Mobilität der Saccharose in den amorphen Bereichen erhöht, sodass sie sich in den thermodynamisch günstigeren Kristallzustand umlagert [47]. Die Rekristallisation setzt nach Überschreiten der charakteristischen Glasübergangstemperatur T_g ein. Zur Rekristallisation amorpher Saccharose existiert bereits eine Reihe von Untersuchungen (u.a. [48,49,50,51]).

1.4 Rheologische Charakterisierung

Die Rheologie befasst sich mit der Deformation flüssiger, kolloidaler oder fester Systeme unter der Einwirkung einer äußeren Kraft. Durch mechanisch-physikalische Methoden kann anhand spezifischer Kenngrößen wie beispielsweise Fließgrenze und Viskosität das Deformationsverhalten von Produkten beschrieben und deren Eigenschaften in Hinblick auf einen optimalen Produktionsprozess angepasst und kontrolliert werden.

Grundlagen der Scherrheologie [1, 52, 53]

Die Bestimmung der Fließeigenschaften erfolgt im sogenannten Rheometer. Hierbei wird die Deformation einer Probe in Abhängigkeit von einer auf sie ausgeübten Kraft bzw. Belastung ermittelt. Ein einfaches Modell zur Veranschaulichung rheologischer Messgrößen und zur Beschreibung von Scherversuchen ist das Zwei-Platten-Modell (Abb. 1.10). Hierbei wird eine obere Platte mit der Fläche A durch eine Tangentialkraft F bewegt. Die untere Platte ist feststehend. Zwischen den Platten befindet sich die zu untersuchende Substanz, z.B. eine flüssige Schokoladenmasse, die an beiden Platten haftet. Die Kraft, die auf eine Probe ausgeübt wird, sowie die daraus resultierende Deformation liefern Erkenntnisse in Bezug auf das Fließverhalten der Substanz. Jedoch sind keine Aussagen hinsichtlich des Materials, aus dem die Probe besteht, möglich.

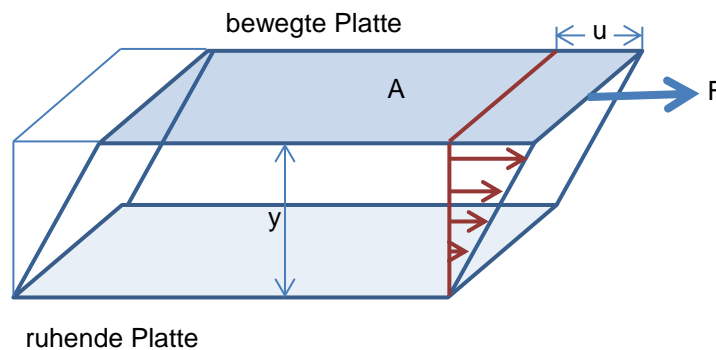


Abb. 1.10: Das Zwei-Platten-Modell zur Veranschaulichung rheologischer Messgrößen, Erläuterung siehe Text

Anhand des Zwei-Platten-Modells lassen sich rheologische Kenngrößen definieren:

- 1) Schubspannung [Pa]:

$$\tau = \frac{F}{A} = \frac{\text{Tangentialkraft}}{\text{Fläche}} \quad (5)$$

- 2) Deformation [ohne Einheit]:

$$\gamma = \frac{du}{dy} = \frac{\text{Auslenkung}}{\text{Plattenabstand}} \quad (6)$$

3) Scherrate [1/s]:

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{du}{d\gamma \cdot dt} = \frac{\text{Deformation}}{\text{Zeit}} \quad (7)$$

Die Schubspannung τ ist die Kraft, die eine Deformation γ erzeugt, woraus die Scherrate $\dot{\gamma}$ als zeitliche Änderung der Deformation resultiert. Die Scherrate wird oftmals auch als Schergefälle bzw. Schergeschwindigkeit bezeichnet. In den meisten rheologischen Messungen wird die Schubspannung vorgegeben und die ihr entsprechende Scherrate ermittelt.

Bei Newtonschen Fluiden (z.B. Wasser, einige Öle, echte Lösungen) besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Schubspannung τ und der resultierenden Scherrate $\dot{\gamma}$ (vgl. Abb. 1.11). Der Proportionalitätsfaktor wird als Viskosität η in Pa·s bezeichnet und steht für den inneren Widerstand der gescherten Substanz gegen das viskose Fließen. Einige Viskositäten von Newtonschen Fluiden sind in Tab. 1.4 dargestellt.

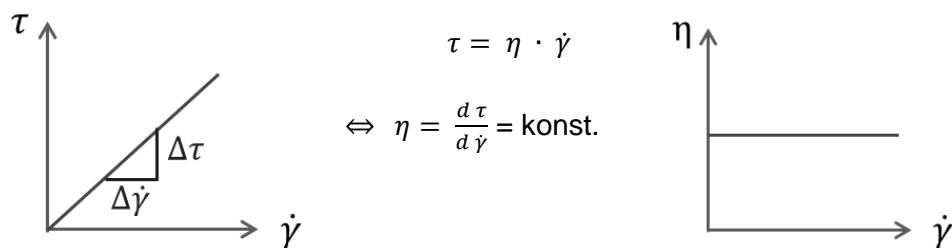


Abb. 1.11: Fließfunktion (links) und Viskositätsfunktion (rechts) eines Newtonschen Fluides

Tab. 1.4: Viskositäten von Newtonschen Fluiden [53]

Substanz	$\eta(20^\circ\text{C})$ [mPa·s]
Wasser	1,002
Olivenöl	84
Glycerol	1490

Neben dem Newtonschen Fließverhalten (lineare Abhängigkeit zwischen Schubspannung und Scherrate) gibt es ebenfalls das sogenannte Nicht-Newtonsche Fließverhalten. Entsprechend der Bezeichnung ist hier kein linearer Zusammenhang zwischen Schubspannung und Scherrate feststellbar. Das Verhältnis $\tau/\dot{\gamma}$ wird als effektive Viskosität bezeichnet. Die Fließ- und Viskositätsfunktionen idealer, nicht-Newtonscher Fluide sind in Abb. 1.12 dargestellt.

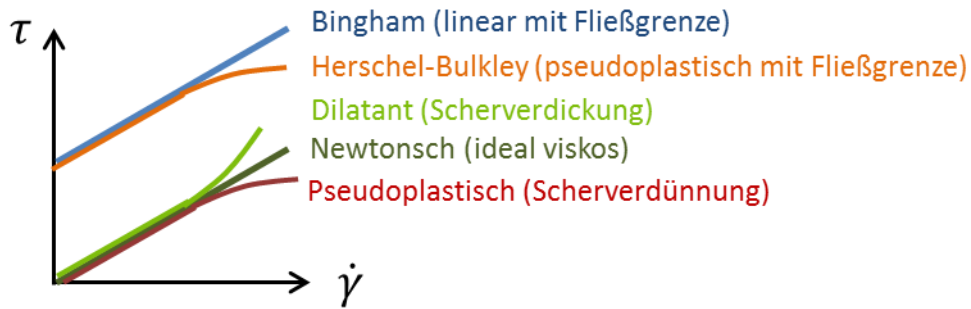


Abb. 1.12: Fließfunktionen idealer, nicht-Newtonscher Fluide, zusammengestellt nach [54]

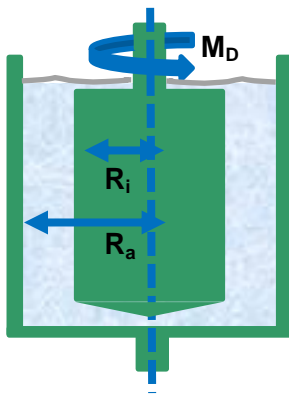
Zur Charakterisierung von Nicht-Newtonschen Fluiden muss die Schubspannung bei unterschiedlichen Scherraten bestimmt werden, um eine umfassende Aussage über die Eigenschaften des Fluides zu erhalten. Zur Beschreibung der Fließeigenschaften werden geeignete mathematische Modelle angewendet (siehe unten).

Eine Kenngröße Nicht-Newtonscher Fluide ist die plastische Fließgrenze τ_0 . Sie ist die aufzubringende Spannung, bei der das Fluid zu Fließen beginnt und stellt eine charakteristische Größe für plastisches Fließverhalten dar. Fluide mit einer Fließgrenze beginnen also nicht eher zu fließen, bis eine minimale Schubspannung aufgebracht wurde. Bei Beanspruchung unterhalb dieser Schubspannung kommen im Falle der Suspensionen ausschließlich Gleiteffekte zum Tragen.

Rheologisches Messsystem

Die Voraussetzung für das Bestimmen rheologischer Kenngrößen ist das stationäre und laminare Fließen der zu charakterisierenden Substanz im Messspalt. Des Weiteren hängt die Fließfunktion stark von der Temperatur ab, sodass auf genaue Temperierung des Messsystems zu achten ist [1,54].

Zur Erfassung der Fließeigenschaften flüssiger Schokoladenmassen wird üblicherweise ein Rotationsrheometer mit Zylindermesssystem verwendet [9]. Mit diesem System werden sehr gut reproduzierbare Ergebnisse erhalten [55]. Es handelt sich um einen Aufbau, bei dem ein Innenzylinder einer Länge l in einem fixierten Behälter rotiert. Hierdurch wird dann im Messspalt ($R_a - R_i$) eine Scherströmung erzeugt. Die Drehzahl n des Innenzylinders bestimmt dabei die Scherrate, die Schubspannung wird aus dem messbaren Drehmoment M_D berechnet (vgl. Abb. 1.13).



Die Scherrate wird durch Drehzahl n des Innenzylinders bestimmt:

$$\dot{\gamma} = \pi \cdot n \cdot \frac{R_a + R_i}{R_a - R_i} \quad (8)$$

Die Schubspannung äußert sich im messbaren Drehmoment M_D :

$$\tau = \frac{M_D}{2 \cdot \pi \cdot R_i^2 \cdot l} \quad (9)$$

Abb. 1.13: Zylindermesssystem zur Bestimmung der Fließfunktion, in Anlehnung an [1,54]

So kann nun die entstehende Schubspannung sowie die effektive Viskosität in Abhängigkeit von der vorgegebenen Scherrate aufgetragen werden (Abb. 1.14).

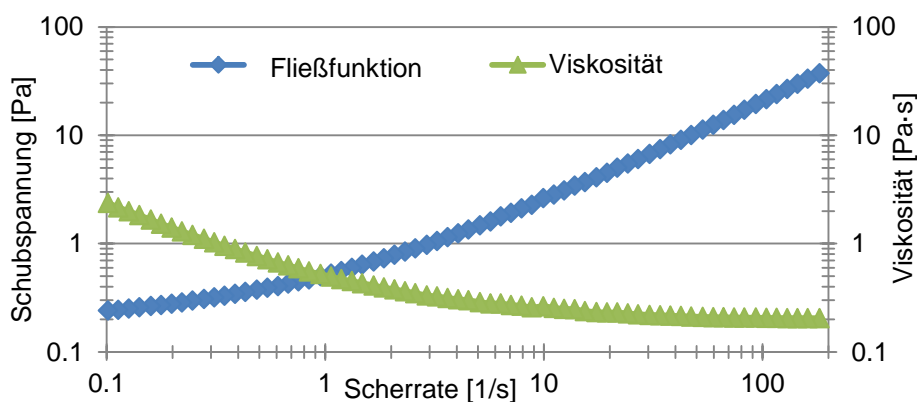


Abb. 1.14: Beispiel einer Fließ- und Viskositätsfunktion einer Kakaobutter-Saccharose-Suspension, gemessen mit einem Zylindermesssystem, vgl. Abb. 1.13 sowie Kap. 6.4.4

Auswertung rheologischer Messungen

Zur Auswertung solcher rheologischen Messungen gibt es unterschiedliche Ansätze [1,56]. Zum einen kann eine Modellierung durch eine formale mathematische Anpassungsfunktion, z.B. eine Gerade, eine Potenzfunktion oder ein Polynom erfolgen. Zum anderen ist auch eine Modellierung unter Berücksichtigung der rheologischen Grundeigenschaften, z.B. Fließgrenze τ_0 , Gleichgewichtsviskosität η_∞ , u.a. möglich.

In Bezug auf die Beurteilung flüssiger Schokoladenmassen wurden spezielle Modellfunktionen erarbeitet. Welche Modellfunktion letztendlich zur Auswertung der Messungen verwendet wird, hängt vom Grad der Anpassung der Funktion an die realen Messwerte ab. Bei der Auswahl des geeigneten Modells spielt aber auch die Frage der technologischen Relevanz der Kennwerte eine wichtige Rolle, denn die aus der Modellfunktion ermittelten Größen sollen die technologisch relevanten Bereiche des Fließverhaltens möglichst genau widerspiegeln. So wird beispielsweise beim Ausformen von

Schokolade in einem Bereich sehr kleiner Scherspannungen nahe der Fließgrenze gearbeitet. Daher ist hier z.B. die Fließgrenze τ_0 ein technologisch relevanter Wert. Dieser wird wesentlich durch Partikel-Partikel-Kontakte sowie Struktur- und Netzbildungsvorgänge beeinflusst [56]. Auch die Gleichgewichtsviskosität kann zur Charakterisierung herangezogen werden. Dieser Wert wird durch die Verfügbarkeit der flüssigen Phase, dem hydrodynamischen Radius von Teilchen / Molekülen sowie deren Möglichkeit, sich in Fließrichtung auszurichten, beeinflusst. Am Punkt der Gleichgewichtsviskosität sind die inneren Strukturen weitestgehend aufgelöst [1,57].

1.5 Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Die Rasterkraftmikroskopie, engl. Atomic Force Microscopy (AFM), wurde im Jahre 1986 von Binnig, Quate und Gerber entwickelt [58]. Sie ermöglicht eine hochauflösende und detaillierte Untersuchung von Oberflächen [59]. Mit einem Rasterkraftmikroskop können sowohl sehr harte Oberflächen, z.B. keramische Materialien, aber auch sehr weiche Proben, wie menschliche Zellen oder einzelne DNA-Moleküle untersucht werden [60]. Dazu wird die Probenoberfläche mit einer an einem Federbalken, dem sogenannten Cantilever, angebrachten Spitze abgerastert. Die Messspitze tritt dabei in Wechselwirkung mit der Probenoberfläche. Im Vergleich zu anderen mikroskopischen Techniken, wie der klassischen Lichtmikroskopie oder der Rasterelektronenmikroskopie (REM), wird das Bild der Oberfläche also weder durch Licht noch durch Elektronen erzeugt.

1.5.1 Aufbau und Prinzip des Rasterkraftmikroskops

Die wesentlichen Bestandteile des AFM und das Funktionsprinzip sind in Abb. 1.15 links dargestellt. Der rechte Teil der Abbildung zeigt das rasterelektronenmikroskopische Bild des Trägerchips mit angebrachtem Cantilever, die Ausschnittvergrößerung zeigt die daran befindliche Messspitze.

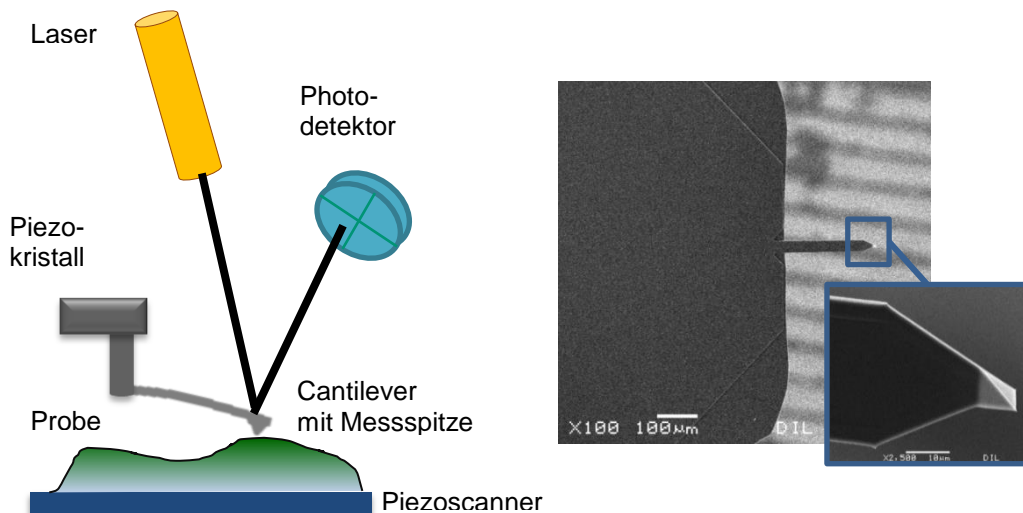


Abb. 1.15: links: Funktionsprinzip des Rasterkraftmikroskops; rechts: Cantilever am Trägerchip

Zur Charakterisierung der Oberflächen wird die Probe mit Hilfe eines Piezo-Scanners unter der Messspitze zeilenweise entlanggeführt, wobei die Spitze dann entsprechend den Wechselwirkungskräften in vertikaler (anziehende oder abstoßende Wechselwirkung) oder horizontaler Ebene (laterale Kräfte, z.B. Reibung) ausgelenkt wird. Die Auslenkung des Cantilevers wird mit Hilfe des Lichtzeigerprinzips erfasst [64,65]. Hierzu wird ein Laserstrahl auf das Ende des Cantilevers fokussiert und auf eine in vier Segmente geteilte Photodiode reflektiert. Aus der Cantilever-Auslenkung in vertikaler Ebene und somit der Differenz der oberen und unteren Segmente ergibt sich das Topographiesignal. Aus der Differenz der linken und rechten Segmente werden die in horizontaler Ebene wirkenden Kräfte detektiert (Torsion des Cantilevers). Der Photodetektor ist in seinem Zentrum am empfindlichsten und weist dort das beste Signal-Rausch-Verhältnis auf. Daher ist die Einstellung des Lasers auf die Null-Position vor jeder Messung sinnvoll.

Der Aufbau und das Prinzip des AFM ermöglichen die dreidimensionale Detektion von Oberflächeneigenschaften bis in den Ångström-Bereich. Parallel zur Aufnahme von Oberflächentopographien (bildgebende Betriebsmodi) können auch andere Eigenschaften wie Viskoelastizität, Reibung sowie Oberflächenladung und Schichtdicken ermittelt werden [61,62,63]. Auch kraftspektroskopische Messungen sind möglich [60]. Eine weitere, relativ neue Methode ist die lokale thermische Oberflächenanalyse, die bereits im Polymerbereich erfolgreich eingesetzt wird [66].

1.5.2 Topographische Betriebsmodi

Um die auftretenden Wechselwirkungen während der Messung in unterschiedlichen Betriebsmodi zu erläutern, werden sogenannte Kraft-Abstands-Kurven herangezogen. Durch diese Kurven werden die auf den Cantilever wirkenden Kräfte in Abhängigkeit von seinem Abstand zur Probenoberfläche dargestellt. Zur Erläuterung des Kontakt-Modus ist eine entsprechende Darstellung in Abb. 1.16 gezeigt.

1.5.2.1 Kontakt-Modus

Befindet sich der Cantilever in größerem Abstand ($>> 100 \text{ \AA}$) zur Probenoberfläche, bleibt er weitestgehend unbeeinflusst von Wechselwirkungskräften und wird nicht ausgelenkt (gelblich markierter Kurvenabschnitt und mittlerer Cantilever in Abb. 1.16). Wenn nun die Spitze an die Probenoberfläche angenähert wird, wirkt zunächst eine anziehende Kraft auf den Cantilever (van-der-Waals-Kraft, rötlich markierter Kurvenabschnitt unterhalb der x-Achse sowie unterer, nach unten ausgelenkter Cantilever in Abb. 1.16). Bei weiterer Annäherung schnappt die Spitze des Cantilevers dann an die Probenoberfläche (Kurvenminimum, Snap-on). An diesem Punkt sind sich dann Spitze und Probe so nah, dass sich deren Elektronenwolken gegenseitig elektrostatisch abstoßen. Der Snap-on kann neben Elektrostatik auch durch Kapillarkräfte hervorgerufen werden. Die Kapillarkräfte treten jedoch nur bei Messungen an Luft auf, da durch die Luftfeuchtigkeit eine Flüssigkeitsbrücke zwischen der Spitze und der Probenoberfläche ausgebildet wird.

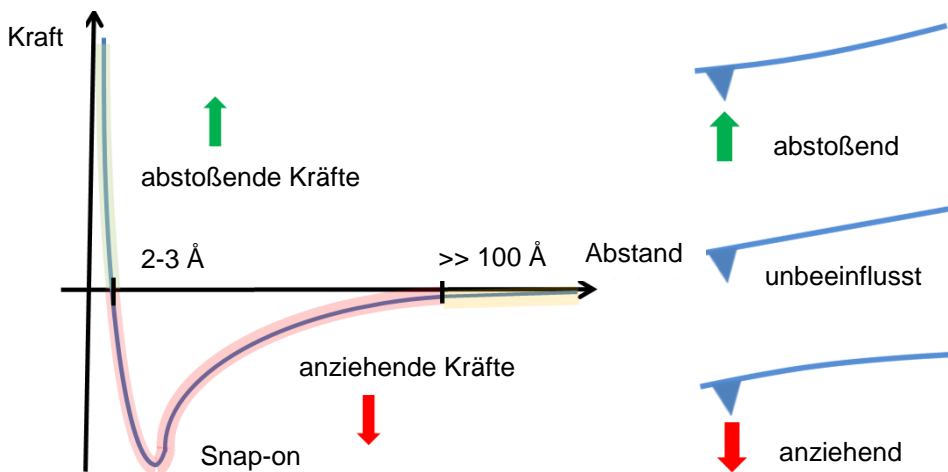


Abb. 1.16: Auf den Cantilever wirkende Kräfte als Funktion seines Abstandes zur Probenoberfläche, Erläuterungen siehe Text

Wenn der Abstand von Spitze zu Probe weiter verringert wird, schwächt die elektrostatische Abstoßung der Elektronenwolken schrittweise die auf den Cantilever einwirkenden anziehenden Kräfte. Sobald der Abstand von einigen Ångström erreicht ist (Länge einer chemischen Bindung, $2-3 \text{ \AA}$), wird diese Kraft null. Wird nun die Kraft auf

den Cantilever mechanisch weiter erhöht, wandelt sich die Wechselwirkung in eine abstoßende Kraft um, sodass der Cantilever nun Druck auf die Probenoberfläche ausübt. Dabei wird er nach oben ausgelenkt (oberer Cantilever in Abb. 1.16). In diesem Bereich spielt sowohl die Auslenkung des Cantilevers als auch die Kompression der Probenoberfläche eine Rolle. Der Kontakt-Modus wird in diesem abstoßenden Kräftebereich ausgeführt. Allerdings bringt dieses Prinzip der Abtastung einige Probleme mit sich. So bewirkt die abstoßende Kraft zwischen der Spitze und der Probe, dass beide durch einen Scanprozess beschädigt oder verändert werden können. Dies hängt wie bereits beschrieben von der Größe der Kräfte ab, die während des Scanvorgangs auf die Probenoberfläche ausgeübt werden. Da es sich bei dem Cantilever um einen Federbalken handelt, gilt das Hooke'sche Gesetz:

$$F = k \cdot D \quad (10)$$

Die Kraft F , mit der die Spitze am Ende des Federbalkens auf die Oberfläche drückt, ist demzufolge proportional zu seiner Auslenkung D mit der Federkonstanten k als Proportionalitätsfaktor. Somit erfahren Erhebungen auf der Probenoberfläche eine höhere Andrückkraft als Vertiefungen. Gerade bei weichen Strukturen, wie z.B. einer menschlichen Zelle, die auf einer harten Unterlage fixiert ist, wird dies sehr deutlich. Durch die höhere Andrückkraft kann die erhöhte Struktur durch die Spitze eingedrückt oder sogar beschädigt werden. Dies verfälscht die Topographie, und ein sogenanntes Scanartefakt entsteht. Um Artefakte zu vermeiden verwendet das AFM eine geschlossene Regel Schleife, die dafür sorgt, dass die Andrückkraft in jedem einzelnen Abtastpunkt konstant gehalten wird. Bei Erreichen einer Krafterhöhung, was in einer Auslenkung des Cantilevers nach oben resultiert, wird die gesamte Abtasteinheit mit Hilfe eines Piezostelllements von der Probe weggezogen (vgl. auch Abb. 1.15 links), bis die Auslenkung des Federbalkens wieder den ursprünglichen Wert annimmt. Das Gleiche passiert bei Vertiefungen. Die Kraft nimmt zuerst ab und die Regelung sorgt sofort dafür, dass der Ausgangszustand wieder hergestellt wird. Dies geschieht wesentlich schneller als der Scanvorgang selbst, so dass im Mittel die Kraft zwischen Spitze und Probe immer konstant gehalten wird. Die gewünschte Andrückkraft wird der Regelung manuell vorgegeben.

1.5.2.2 Oszillations-Modi

Weitere Betriebsarten sind die sogenannten Oszillations-Modi. Hierbei wird der Cantilever während des Scanvorgangs in eine vertikale Schwingung versetzt, sodass zwischen der Spitze und der Probe nur relativ geringe Kräfte auftreten. Reibungsartefakte wie sie beim Kontakt-Modus auftreten, werden durch diese Messmethode gänzlich vermieden. Das grundlegende Funktionsprinzip dieser Modi ist in Abb. 1.17 dargestellt.

Die Anregung des Cantilevers zur vertikalen Oszillation wird wieder über ein Piezo-element realisiert, mit dem die Oszillation auf die Resonanzfrequenz des jeweils genutzten Cantilevers eingestellt wird. Eine typische Schwingungsamplitude in Luft liegt bei 30 - 100 nm. Bei Annäherung der Spitze an die Probenoberfläche wird die Oszillation wiederum mit Hilfe des Lasers überwacht. Durch die Wechselwirkung der Spitze mit dem Kräftefeld der Probe wird die Cantileverschwingung gedämpft, was zu einer Verringerung der Amplitude der Oszillation führt. Diese detektierte Veränderung wird nun wiederum in eine Regelschleife eingegeben, wobei der Istwert mit dem Sollwert verglichen wird. Die Regelung sorgt nun durch vertikales Nachführen des Cantilevers an die Probe dafür, dass die reale Amplitude immer dem Sollwert (sog. Setpoint) und somit einer mittleren konstanten Kraft entspricht. Das Funktionsprinzip der Oszillationsmodi ist in Abb. 1.17 dargestellt.

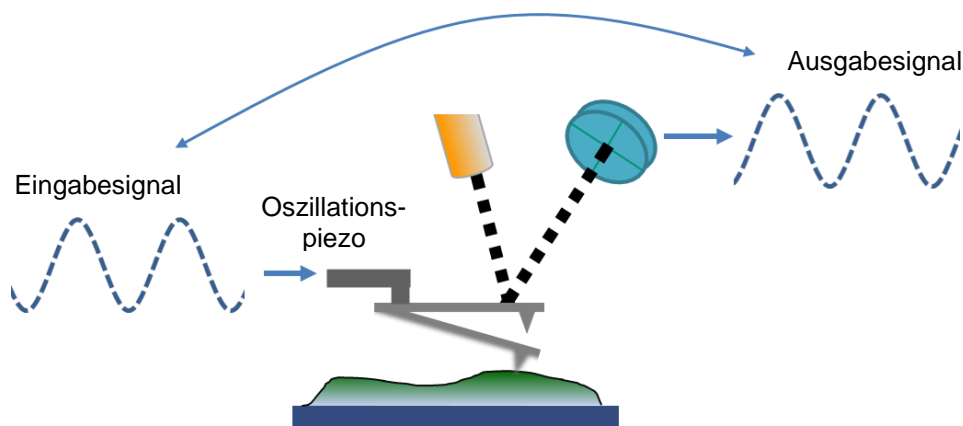


Abb. 1.17: Allgemeines Funktionsprinzip der Oszillationsmodi, Erläuterungen siehe Text

Wie bereits beschrieben liegt der Vorteil des Oszillationsmodus in der geringen Beanspruchung der Spitze. Daher wird eine hohe Sensitivität bei der Bestimmung der Oberflächentopographie erreicht. Der Oszillationsmodus kann auf unterschiedliche Arten betrieben werden.

Nicht-Kontakt-Modus

Um im sogenannten Nicht-Kontakt-Bereich arbeiten zu können, muss die Spitze so nah an die Oberfläche herangeführt werden, dass sie im anziehenden Bereich arbeitet, ohne in den abstoßenden Bereich überzugehen (vgl. rote Kurvendarstellung in Abb. 1.18). Die Überwachung der Oszillation ist daher absolut notwendig. Diese Gratwanderung wird erleichtert, indem für diesen Betriebsmodus hochsteife Cantilever mit hoher Resonanzfrequenz verwendet werden. In den meisten Fällen wird der Nicht-Kontakt-Modus in amplitudenmodulierter Form ausgeführt, bei dem die Schwingungsamplitude des Cantilevers vorgegeben wird.

In der Regel ist der Nicht-Kontakt-Modus in Luft jedoch nicht praktikabel, da die Spitze den Bereich der Kapillarkräfte in einer durch Luftfeuchtigkeit gebildeten Flüssigkeitschicht auf der Probenoberfläche nicht mehr verlassen kann und an der Oberfläche festgehalten wird. So wird zum einen die Oberfläche des Filmes statt der Probenoberfläche abgetastet, zum anderen kann die Spitze aber auch innerhalb des Feuchtigkeitsfilmes schwingen, was zu hohen Adhäsionskräften und Scanartefakten führt. Dies kann bei Messung im Semikontakt-Modus - auch TappingMode™ genannt - vermieden werden.

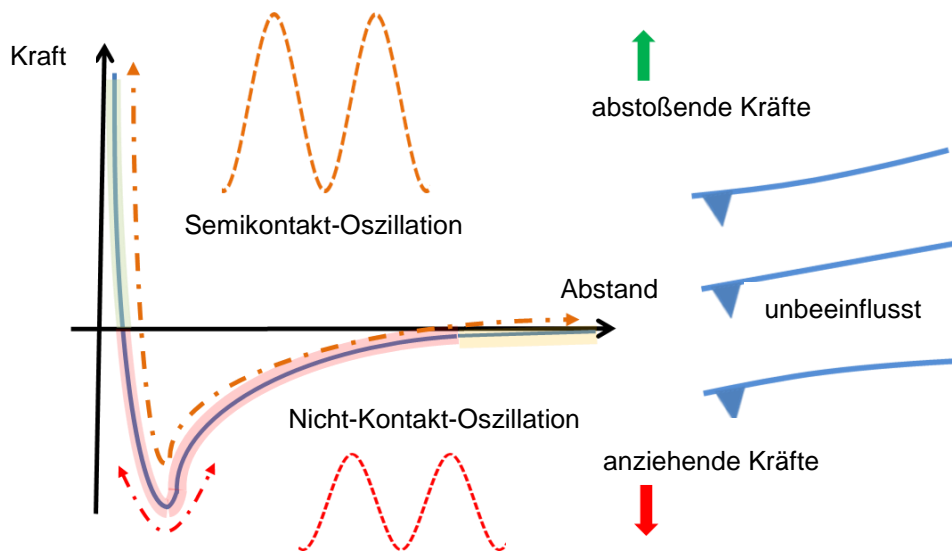


Abb. 1.18: Darstellung der Kräftebereiche für verschiedene Oszillationsmodi mit unterschiedlichen Amplituden, Erläuterung siehe Text

Semikontakt-Modus

Der Semikontakt-Modus ist mit dem kontaktfreien Modus zu vergleichen und wird amplitudenmoduliert durchgeführt. Der Cantilever schwingt hier jedoch wesentlich dichter an der Probenoberfläche, sodass am Punkt des maximalen Ausschlages der Schwingung die Probenoberfläche berührt wird. Im Laufe der Schwingung durchläuft er dabei mehrere Kräftebereiche (vgl. orange markierte Kurvenbereiche in Abb. 1.18). Der Cantilever schwingt vom unbeeinflussten Zustand ohne Kräfteeinwirkung (gelblicher Bereich) über den anziehenden Bereich (rot) bis in den Bereich abstoßender Krafteinwirkung (grün). Dort wo Kontakt zur Probenoberfläche besteht, befindet sich der Cantilever im Bereich abstoßender Wechselwirkungen. Die Messspitze wird demnach nur beschädigt, wenn die Aufdrückkraft zu stark gewählt wird (Setpoint). Die lateralen Kräfte (Reibung) werden durch die während des Scanvorgangs rechtwinklig zur Probenoberfläche schwingende Spitze aber fast vollständig vermieden. Des Weiteren ist der oszillierende Cantilever in der Lage, den durch Luftfeuchtigkeit gebildeten Film zu durchdringen und somit auch mechanische Oberflächeneigenschaften der Probe zu

erfassen. Aufgrund dieser Vorteile wird der Semikontakt-Modus häufig verwendet. Zudem ist dieser Modus vergleichsweise einfach durchzuführen. Die oben beschriebene Gratwanderung im Nicht-Kontakt-Modus, bei der der Cantilever im anziehenden Kräftebereich gehalten werden muss, wird umgangen.

Durch den Kontakt der Spitze mit der Probenoberfläche wird die Amplitude der Schwingung verringert. Die Regelung führt nun den Cantilever der Oberfläche in der Art und Weise nach, dass dessen Amplitude konstant gehalten wird. Auf diese Weise wird ähnlich wie über die Cantileverauslenkung (Höhenbild) ein weiteres Topographiebild generiert. Dieses sogenannte Amplituden- oder auch Fehlerbild enthält jedoch keine absolute Information über die Höhe.

Wenn genaue Höhendaten erforderlich sind, reicht allerdings auch die Auswertung des Topographie- bzw. Höhenbildes nicht mehr aus. Denn dieses Bild entsteht direkt aus der Auslenkung des Cantilevers, also aus der elektrischen Spannung, die den Z-Piezo während der Messung auf eine bestimmte Distanz ausdehnt. Jedoch unterliegt der Piezo einer mechanischen Hysterese, die sich zu dieser Distanz addiert. Das bedeutet, dass aus der angelegten Spannung nie eindeutig auf die exakte Höhe geschlossen werden kann. Dieser Effekt ist umso stärker wenn es sich um größere Höhenunterschiede handelt. Daher besitzt das verwendete AFM zusätzlich einen Hözensensor, den sogenannten Z-Sensor. Dieses Z-Sensor-Signal ist absolut genauer, da dieser Sensor linear ist. Das Höhsignal als Resultierende der Z-Spannung ist jedoch rauschärmer und daher bei sehr flachen Strukturen unter ca. 30 nm präziser. Dort fällt die Piezohysterese praktisch nicht ins Gewicht.

Des Weiteren führen unterschiedlich harte und weiche Regionen auf der Probenoberfläche bei der Abtastung zu einer Phasenverschiebung der vertikalen Oszillation des Cantilevers. Zusätzlich zur Höhe, dem Z-Sensor-Signal und der Amplitude kann auch diese Phasenverschiebung detektiert und graphisch veranschaulicht werden. Dadurch können auch bei vollkommen glatter Probenoberfläche unterschiedliche Materialeigenschaften wie beispielsweise die Viskoelastizität dargestellt und die Oberflächeneigenschaften weiter differenziert werden.

Die einzelnen Darstellungsmöglichkeiten sind in Abb. 1.19 gezeigt.

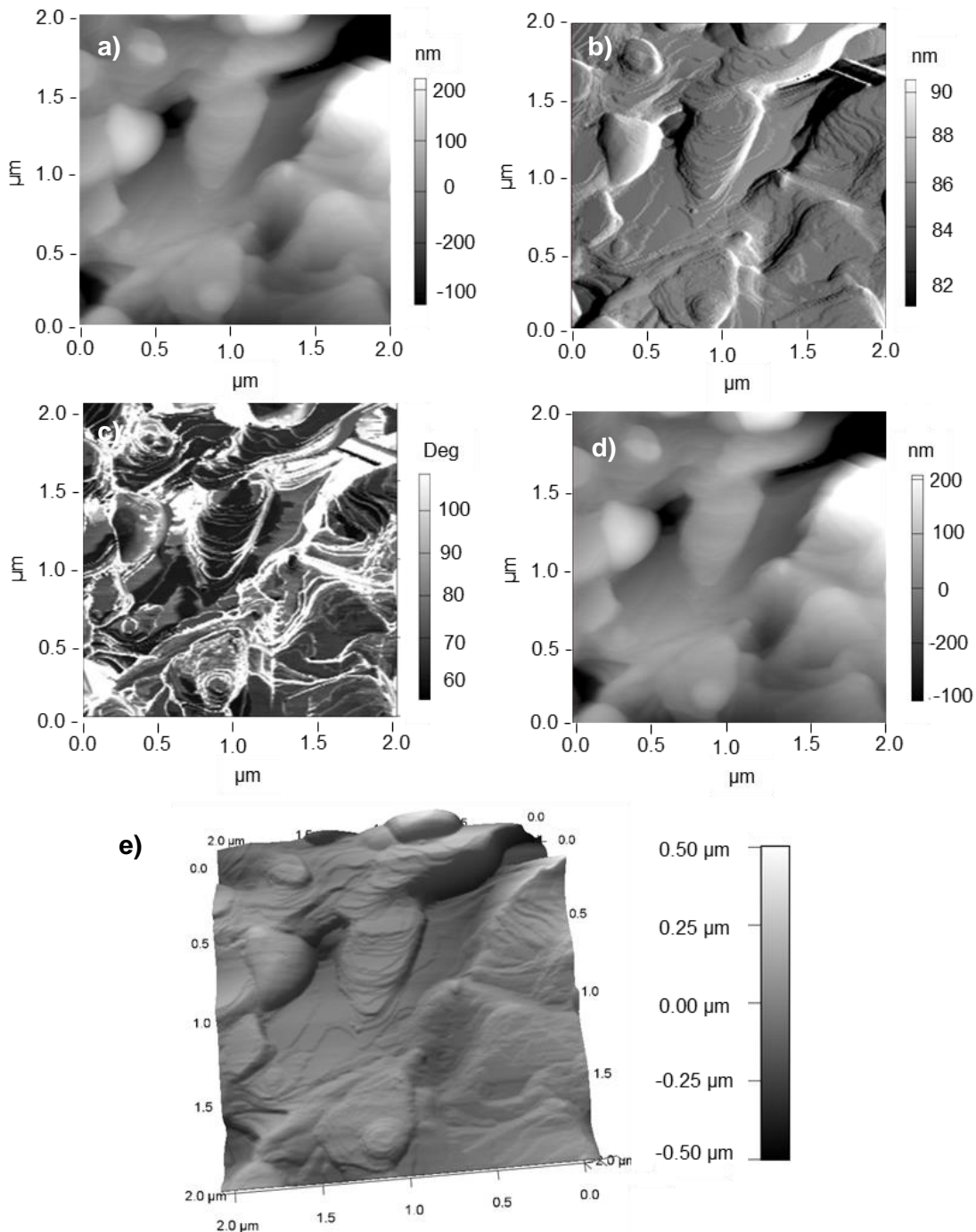


Abb. 1.19: Unterschiedliche Darstellungen des Scans einer Saccharoseoberfläche im Semikontakt-Modus: a) Höhenbild, b) Amplitudenbild, c) Phasenbild und d) Z-Sensor-Bild sowie e) eine dreidimensionale Darstellung des Höhenbildes Erläuterungen siehe Text

1.5.3 Kraftspektroskopie

Neben der Oberflächentopographie lässt sich mittels AFM auch die Adhäsivität der Probenoberfläche bestimmen [62]. Hierzu werden Kraft-Abstands-Kurven aufgenommen. Die Spitze wird dabei an die Probenoberfläche angenähert, bis sie mit ihr in Kontakt tritt (vgl. Abb. 1.20, Punkt 2). Dieser Kontaktpunkt wird über einen Spannungswert am Detektor vorgegeben, bei dessen Erreichen die Richtung des Piezos umgekehrt wird. Infolgedessen wird der Cantilever wieder von der Probenoberfläche zurückgezogen. Die Adhäsionskraft, welche im Verlauf dieser Prozedur zwischen der Spitze und der Probe auftritt, kann dann als Funktion des Abstandes zwischen Probenoberfläche und Spitze dargestellt werden.

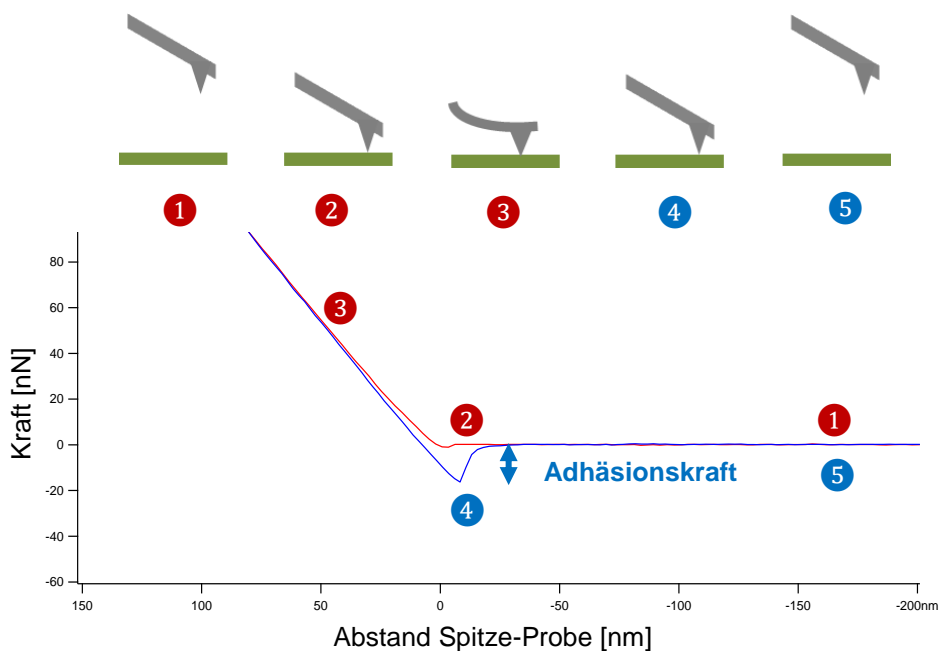


Abb. 1.20: Kraft-Abstands-Kurve gemessen mit AFM, Erläuterungen siehe Text

Wenn der Abstand zwischen Spitze und Probenoberfläche groß genug ist, ist der Cantilever unbeeinflusst von Kräften (Abb. 1.20, Punkt 1 und 5, horizontale Gerade). Diesem Zustand wird eine Kraft von null zugewiesen. Bei Annäherung der Spitze an die Probe wirkt auf den Cantilever eine anziehende Kraft, welche ihn auf die Probenoberfläche schnappen lässt (Abb. 1.20, Punkt 2, sog. Snap-On). Wenn der Cantilever während des Kontaktes zur Oberfläche weiter aufgedrückt wird, dringt er in die Oberflächen ein. Die Anziehung wandelt sich dann in eine abstoßende Wechselwirkung (Abb. 1.20, Punkt 3). An einem festgelegten Punkt wird die Richtung nun umgekehrt. Allerdings bleibt die Spitze beim Zurückziehen von der Oberfläche durch die Adhäsion eine gewisse Zeit mit ihr im direkten Kontakt (Abb. 1.20, Punkt 4), bis die Rückzugskraft der Adhäsion zwischen Probenoberfläche und Cantileverspitze überwiegt (sog. Snap-Off). Der Cantilever schnappt von der Probe weg und die Ausgangsposition der Kurve ist

wieder erreicht (Abb. 1.20, Punkt 5). Die Adhäsivität kann nun als Differenz des Kraftminimums des Rückzugweges und der freien Auslenkung des Cantilevers ohne jeglichen Krafteinfluss angegeben werden [62].

Die Adhäsionskraft zwischen der Spitze und der Probenoberfläche setzt sich aus mehreren Größen zusammen. Sie ist eine Kombination aus elektrostatischer Wechselwirkung, van-der-Waals-Kräften, Kapillarkräften sowie der Wechselwirkung zwischen chemischen Endgruppen von Spitze und Probe [62]. Weiterhin ist für einen quantitativen Vergleich der Adhäsionskräfte zu berücksichtigen, dass auch die Oberflächenrauigkeit der Probe einen Einfluss auf die Messung besitzen kann. Dieser ist allerdings nur schwer zu quantifizieren. Wenn sich die Spitze in einem „Tal“ befindet, wirken die Kräfte aus unterschiedlichen Richtungen auf diese ein. Neben der Wechselwirkung vom „Boden“ wird die Spitze auch von seitlichen Wechselwirkungen beeinflusst. Bei einer eher flachen Oberfläche findet die Wechselwirkung mit der Spitze in erster Linie aus einer Richtung statt, die seitliche Beeinflussung ist zu vernachlässigen (vgl. Abb. 1.21, oberer Reihe).

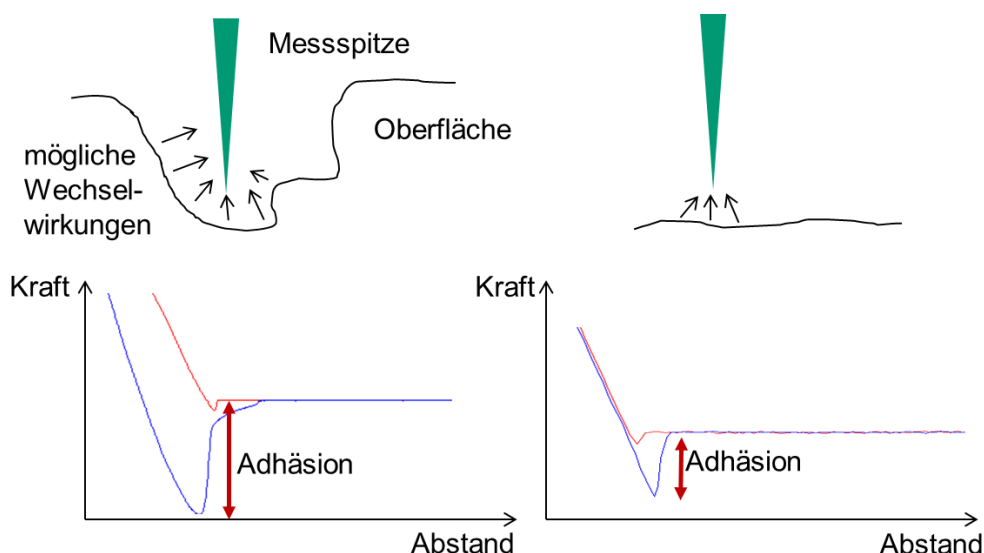


Abb. 1.21: Ursachen der topographieabhängigen Adhäsion, Erläuterungen siehe Text

Die Auswirkung dieser Wechselwirkungen auf die Kraft-Abstands-Kurve ist in der unteren Reihe der Abb. 1.21 dargestellt. Wird die Spitze stark beeinflusst, ergibt sich eine höhere Adhäsion (vgl. Abb. 1.21, links). Die Spitze wird während des Zurückziehens von der Oberfläche im Verlauf der Messung stärker zurückgehalten, als bei einer geringeren Beeinflussung auf ebenen Oberflächenbereichen oder im Bereich scharf abgegrenzter Strukturen (vgl. Abb. 1.21, rechts). Im umgekehrten Fall kann ebenso eine veränderte Spitzengeometrie einen Einfluss auf die Adhäsionskraft besitzen. Hier gilt genauso: je größer die Kontaktfläche zwischen Spitze und Probe, desto höher ist auch die Adhäsionskraft. Das bedeutet, dass eine stark abgenutzte und somit abgerundete Spitze eine

scheinbar stärkere Adhäsivität bewirkt als eine scharfe Spitze mit wesentlich geringerer Kontaktfläche. Dieser Einflussfaktor kann jedoch durch beispielsweise die Vorgabe einer maximalen Aufdrückkraft minimiert werden. Da die Abnutzung einer neuen, unbenutzten Spitze während der ersten Messungen am stärksten ist, wurde zudem jede Spitze vor den Adhäsivitätsmessungen zur Topographiebestimmung verwendet. Eine Langzeitmessung mit einer solchen Spitze auf ein und derselben Probenoberfläche zeigte exemplarisch, dass die Spitzenabnutzung und die damit verbundene Veränderung der Spitzengeometrie im Rahmen dieser Arbeiten vernachlässigbar sind (vgl. auch Abb. 8.4 und Abb. 8.5 im Anhang auf Seite 132).

Auch die Feuchtigkeit der Atmosphäre, in der gemessen wird, spielt bei der Bestimmung der Adhäsionskräfte eine Rolle. Bei einer Luftfeuchtigkeit unterhalb von 3,5 % kommt es zu bereits erwähnten starken elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen der Spitze und der Probe, wodurch die Messwerte beeinflusst werden [62]. Dieser Einfluss wird anhand der Kraft-Abstands-Kurven wieder sehr deutlich (vgl. Abb. 1.22).

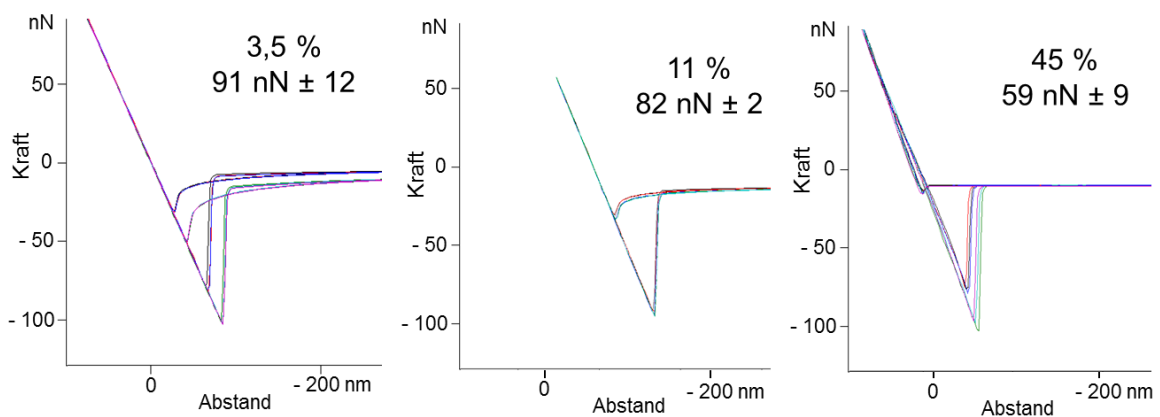


Abb. 1.22: Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Oberflächenadhäsivität einer Glimmeroberfläche

Diese Kurven wurden jeweils auf ein und derselben Stelle einer Glimmeroberfläche aufgenommen (vgl. Kap. 6.4.6.4). Bei 3,5 % rH (relative humidity, relative Luftfeuchtigkeit) sind die elektrostatischen Wechselwirkungen vorherrschend, die Adhäsivität variiert stark. Bei 45% rH zeigt sich der Einfluss einer auf der Probenoberfläche gebildeten Wasserschicht, wodurch die Adhäsivität ebenfalls leichten Schwankungen unterworfen ist. Bei 11 % rH wird eine gute Reproduzierbarkeit der Kurven erreicht. Dies ist demnach der zu bevorzugende Arbeitsbereich. Im Rahmen dieser Arbeit werden jedoch zerkleinerte Saccharosepartikel mit einer amorphen Oberfläche untersucht, die bei erhöhter Luftfeuchtigkeit rekristallisieren. DSC-Messungen (Dynamische Differenzkalorimetrie) zeigten aber, dass dieser amorphe Zustand bei einer Luftfeuchtigkeit von ca. 11 % rH über einen Zeitraum von mindestens fünf Stunden erhalten bleibt (vgl. Abb. 8.9). Dies war für die Messung der Saccharoseoberflächen ausreichend.

Bestimmung der Adhäsionskraft

Messtechnisch wird jedoch nicht die Adhäsionskraft in Abhängigkeit vom Abstand zwischen Spitze und Probenoberfläche bestimmt. Vielmehr wird die vertikale Cantileverauslenkung in Form einer Spannung am Detektor erfasst. Zur Darstellung von Kraft-Abstands-Kurven wie in Abb. 1.20 muss dem Detektorsignal somit eine Kraft zugeordnet werden. Hierfür ist die Federkonstante nötig, die für jeden einzelnen Cantilever gesondert ermittelt werden muss.

Für diese Prozedur kann die Technik des AFM und die Gerätesoftware genutzt werden. Dazu wird zunächst die Empfindlichkeit des Systems Laser-Cantilever-Photodetektor bestimmt. Hierfür wird die Steigung der Auslenkungs-Abstands-Kurve im Kontakt-Bereich des Cantilevers (V/nm , vgl. Abb. 1.23) ermittelt. Dieser Wert hängt von vielen Faktoren wie z.B. Spitzengröße oder Cantileverlänge ab. Er wird von der Software als Kehrwert, der sogenannten „inverse optical lever sensitivity“ (InvOLS), in nm/V ausgegeben. Kleinere Werte bedeuten dabei eine höhere Empfindlichkeit.

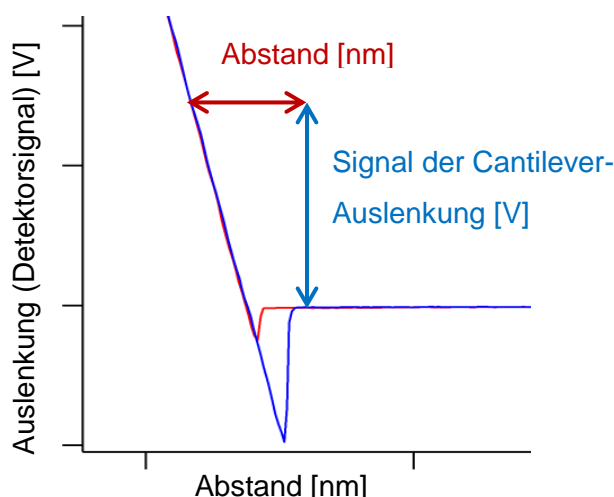


Abb. 1.23: Bestimmung der Laser-Cantilever-Detektor-Empfindlichkeit

Durch diese Bestimmung wird das Spannungssignal am Detektor in eine Entfernungsangabe umgewandelt. Der Wert der InvOLS liegt typischerweise zwischen 10 und 100 nm/V . Die für eine solche Kalibration notwendigen Auslenkungs-Abstands-Kurven werden auf einer atomar flachen und zudem sehr harten Oberfläche durchgeführt. Dies ist die Grundvoraussetzung dafür, dass die Spitze während der Aufnahme der Kurve direkt der Bewegung in z-Richtung folgt und nicht in die Probe eindringt. In dieser Arbeit wird die Prozedur auf mit einem Klebestreifen frisch abgezogenem Glimmerplättchen vorgenommen.

Im Anschluss wird die Federkonstante bestimmt. Dies geschieht durch Messen der thermisch induzierten, mittleren quadratischen Cantileverauslenkung in vertikaler Ebene

und über das Äquipartitionstheorem. Dieses Theorem, auch Gleichverteilungsgesetz genannt, besagt, dass im thermischen Gleichgewicht bei gegebener absoluter Temperatur T im Mittel jeder Freiheitsgrad die Energie

$$E = \frac{1}{2} k_B T \quad (11)$$

besitzt, wobei k_B die Boltzmann-Konstante ist. Über das Resonanzverhalten des Cantilevers bei thermischer Anregung an Luft ist nun seine mittlere quadratische Auslenkung zugänglich. Der Cantilever wird hierbei als einfacher harmonischer Oszillator betrachtet. Daher ergibt sich folgender Zusammenhang zwischen Cantileverauslenkung und Energie [62]:

$$\frac{1}{2} k \langle x^2 \rangle = \frac{1}{2} k_B T. \quad (12)$$

Die mittlere quadratische Auslenkung $\langle x^2 \rangle$ ist demnach umgekehrt proportional zur Federkonstante k :

$$\langle x^2 \rangle = \frac{k_B T}{k} \Leftrightarrow k = \frac{k_B T}{\langle x^2 \rangle} \quad (13)$$

Kraft-Karten

Kraft-Abstands-Kurven können auch in Form eines Scans aneinandergereiht und zu einem Bild bzw. einer Karte zusammengesetzt werden. Dabei wird in einem definierten Bildausschnitt in jedem Bildpunkt eine Kraft-Abstands-Kurve aufgenommen (vgl. Abb. 1.24). Aus dieser Kurve können verschiedene Kenngrößen wie z.B. die Adhäsivität ermittelt werden. Der Wert der lokalen Adhäsivität wird dann in einen Grauwert umgerechnet und dieser zu einer Karte zusammengestellt. So entsteht ein Bild, in dem die lokale Adhäsivität der Probenoberfläche dargestellt ist.

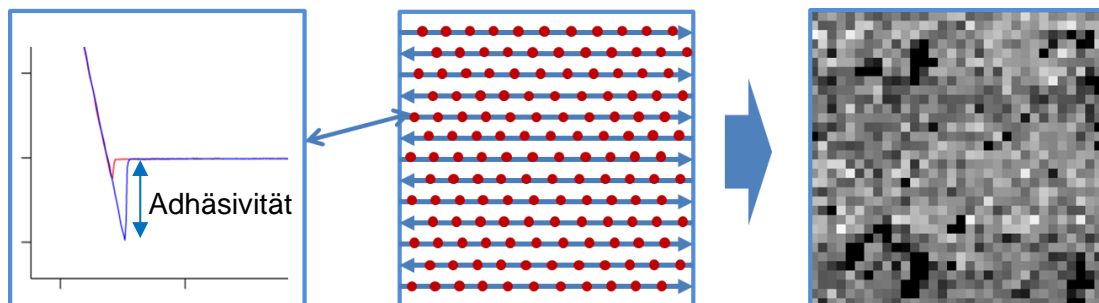


Abb. 1.24: Prinzip der Aufnahme von Kraft-Karten (links) sowie resultierende Grauwertbild (rechts), Erläuterungen siehe Text

Zur Auswertung dieser Vielzahl an Kraft-Abstands-Kurven einer solchen Karte wird eine Häufigkeitsverteilung erstellt (vgl. Abb. 1.25). Hierbei wird die Anzahl an Kraft-Abstands-Kurven, die eine bestimmte Adhäsionskraft besitzen, in Abhängigkeit von der entsprechenden Adhäsionskraft aufgetragen.

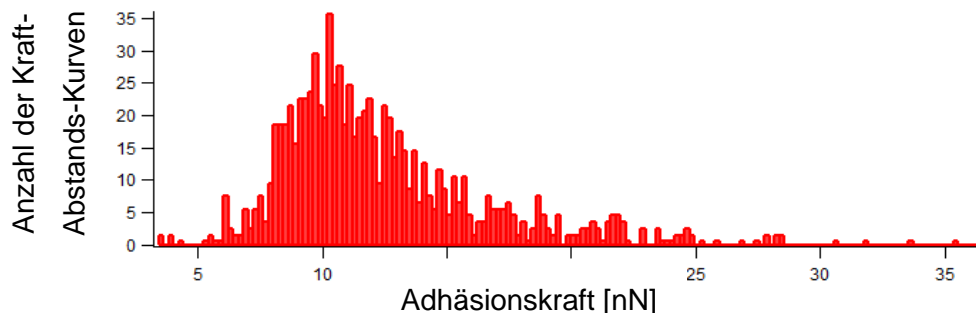


Abb. 1.25: Beispiel einer Häufigkeitsverteilung der Adhäsivitäten errechnet aus einer $1 \times 1 \mu\text{m}$ Kraftkarte mit 900 Messpunkten, ca. 30 nm^2 pro Messpunkt

1.5.4 Lokale Thermische Analyse (LTA)

Neben den bereits vorgestellten Messmethoden bietet die Technik des AFM eine weitere Möglichkeit, Oberflächen orts aufgelöst zu charakterisieren. So lassen sich thermisch induzierte Phasenänderungen auf einer Probenoberfläche erzeugen und so beispielsweise Schmelztemperaturen bestimmen [67]. Mit der bereits gut bekannten Methode der DSC lassen sich solche Phasenänderungen ebenfalls bestimmen. Allerdings liefert diese Methode ausschließlich Informationen über eine größere Gesamtheit, sodass beispielsweise lokale Veränderungen auf einer Probenoberfläche nicht ermittelt werden können.

Dazu ist es notwendig, die Probe lokal zu erhitzen. Dies geschieht mit Hilfe speziell dazu entwickelter Cantilever, bei denen die Spitze über einen integrierten ohmschen Heizer erwärmt werden kann. Das Heizelement befindet sich einige Mikrometer von der Spitze entfernt auf der Rückseite des Cantilevers [68]. Wenn die Spitze nun in Kontakt mit der Probenoberfläche gebracht wird, entsteht ein von den thermischen Eigenschaften der Probe abhängiger Wärmefluss von der Spitze in die Probe, woraufhin sich diese lokal ausdehnt. Dieser Änderung wird über die Cantileverauslenkung und die resultierende Veränderung des Signals am Photodetektor. Während des Aufheizvorgangs wird die Durchbiegung des Cantilevers konstant gehalten (wie zuvor beschrieben im Kontakt-Modus.) Dadurch drückt die Spitze mit konstanter Kraft auf die Probenstelle. Dieser Prozess kann in Form einer Kurve wie beispielsweise in Abb. 1.26 dargestellt werden.

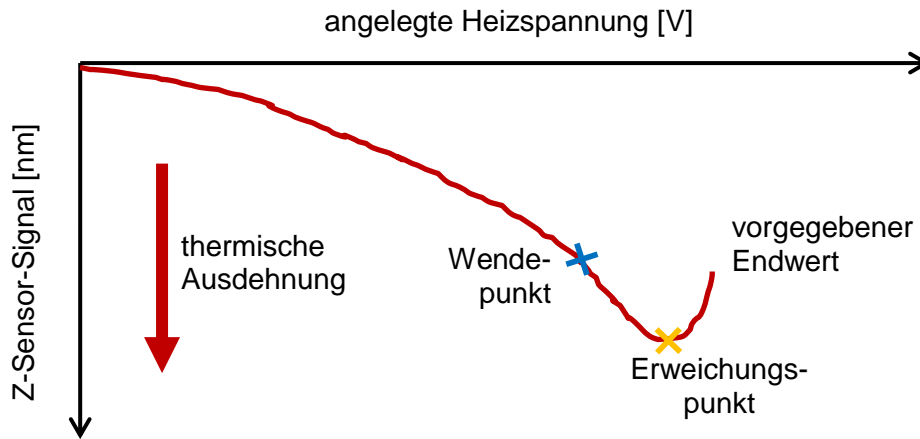


Abb. 1.26: Veränderung der Cantileverauslenkung durch lokale Erhitzung als Funktion der Spannung am Heizelement (=Temperatur), Erläuterungen siehe Text

Das Z-Sensor-Signal repräsentiert somit zu jedem Zeitpunkt die genaue lokale Ausdehnung der Probe. Dabei zeigt der Wendepunkt der Kurve den Anfang der Erweichung der Oberfläche an. Hier beginnt die Spitze am Cantilever in die Probenoberfläche einzudringen, während die thermische Ausdehnung weiterhin stattfindet. Im Kurvenminimum sind dann thermische Ausdehnung und Eindringen der Spitze in die Probe im Gleichgewicht, das z-Sensor Signal pendelt sich ein. Die Spitze wird immer noch weiter geheizt, wodurch das Signal schneller ansteigt, bis die Probenoberfläche vollständig erweicht wurde. Die Messung wird beendet, sobald ein vorgegebener Signalwert (Eindringtiefe in nm) erreicht wurde [66].

Nun ist aber nicht die am Heizelement angelegte Spannung, sondern die daraus resultierende Temperatur an der Grenzfläche zwischen Spitze und Probe von Interesse. Die von der AFM Software ausgegebene Messgröße ist jedoch der Widerstand R , der sich bei Kontakt der Spitze mit der Probenoberfläche aus der am Erweichungspunkt angelegten Heizspannung U und dem gemessenen Stromfluss I ergibt (ohmsches Gesetz). Dieser Widerstand muss nun mit einer Temperatur korreliert werden. Dazu wird der Widerstand bei Kontakt der Spitze mit unterschiedlichen Standardsubstanzen bestimmt, dessen Erweichungstemperaturen bekannt sind. Hieraus wird dann eine Kalibrationsgerade erstellt, mit dessen Hilfe der Widerstand in die Erweichungstemperaturen umgerechnet werden kann [66,69].

2 Problemstellung und Zielsetzung

Zur Herstellung von Schokolade werden häufig die Emulgatoren Sojalecithin und PGPR eingesetzt [70]. Sie dienen zur Einstellung der Fließeigenschaften, die für die Verarbeitung der Schokoladenmassen notwendig sind. So muss eine flüssige Masse eine bestimmte Viskosität und Fließgrenze besitzen, damit sie z.B. in den Rohrsystemen fließ- und pumpfähig ist. Jedoch kann keine allgemeingültige Empfehlung in Bezug auf das konkrete Mischungsverhältnis der Emulgatoren für die jeweilige Schokoladenrezeptur gegeben werden [31]. Daher ist meist eine Anpassung der Fließeigenschaften im Laufe des Herstellungsprozesses notwendig.

Sowohl die Viskosität als auch die Fließgrenze können zum einen über weitere Zugabe von Kakaobutter erniedrigt werden. Dies ist jedoch recht kostspielig. Zum anderen können die Fließeigenschaften aber auch durch weitere Zugabe von Emulgatoren eingestellt werden. Neben PGPR und Sojalecithin werden dazu oftmals auch Zitronensäureester mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren verwendet. Die Einstellung der optimalen Verarbeitungseigenschaften findet jedoch ausschließlich auf Grundlage empirischer Erfahrungen statt [9,31].

Die Möglichkeiten zur Beeinflussung des Fließverhalten durch Zerkleinerung der Feststoffe in Schokolade sowie durch Emulgatorzugabe sind bereits sehr gut bekannt (u. a. [5,11,17,18,31]). Auch der Wirkungsmechanismus von Lecithin wurde bereits untersucht (u.a. [70,71], vgl. auch Kap. 1.2.1). Für das Polymer PGPR bestehen jedoch noch keine eindeutigen Erkenntnisse zur Wirkungsweise. Es existieren lediglich Hypothesen, welche den enormen Einfluss auf die Fließgrenze ohne wesentliche Veränderung der Viskosität der Suspension erklären sollen [26]. Allerdings war es bislang nicht möglich, das makroskopische Resultat des Emulgatoreinsatzes den stofflichen Ursachen zuzuordnen [19,20]. Dies ist aber für einen Erkenntnisgewinn zur Wirkungsweise von Emulgatoren und zu ihrem wissenschaftlich begründeten Einsatz absolut notwendig. Erst durch die Kombination einer makroskopischen Analyse der Suspensionen und einer Charakterisierung der Feststoffpartikeloberflächen im Mikro- und Submikrometerbereich können Erkenntnisse erlangt werden, die über den bisherigen Kenntnisstand hinausgehen. Ziel dieser Arbeit ist es somit, den auf Erfahrungswerten beruhenden Einsatz von Emulgatoren, insbesondere des PGPR, auf wissenschaftlicher Basis zu erklären.

Ein weiterer Aspekt, der im Rahmen dieser Arbeit näher untersucht werden soll, ergibt sich aus dem Einsatz von Sojalecithin. Dieses wird meist aus genetisch veränderten Sojapflanzen (GMO, genetisch veränderter Organismus) gewonnen. Vor dem Hintergrund der GMO-Problematik besteht jedoch seitens der Industrie ein vermehrtes Interesse

daran, Sojalecithin aus nicht-GMO Quellen einzusetzen. Allerdings ist dessen Verfügbarkeit bereits stark eingeschränkt [72]. Als Gemisch von Phospholipiden unterschiedlicher Polarität ist das Sojalecithin aber sehr gut an die amphiphilen Oberflächeneigenschaften der zerkleinerten Feststoffe in der Schokolade angepasst. Somit ist der Ersatz durch einen alternativen Emulgator allein nicht möglich. Es werden daher die Wechselwirkungen von unterschiedlichen Emulgatoren untersucht, um ein Gemisch zu finden, mit dem das bisher verwendete Sojalecithin adäquat ersetzt werden kann.

Lösungsstrategie

Um diese Ziele zu erreichen, werden zunächst die Merkmale der Feststoffpartikeloberflächen untersucht, die für die Wechselwirkungen mit der flüssigen Kakaobutter und den Emulgatormolekülen relevant sind [17]. Dies sind die Oberflächentopographie und die Adhäsivität. Zudem können diese Oberflächeneigenschaften durch die Art des Zerkleinerungsvorgangs erheblich beeinflusst werden [6,73]. Daher werden die Eigenschaften der Partikeloberflächen nach unterschiedlicher Art der Zerkleinerung bestimmt und mit denen von unzerkleinerten Partikeln verglichen. Wie bereits beschrieben, ist Saccharose neben Kakaopartikeln, Milchpulver und Kakaobutter der Hauptbestandteil von Schokolade. Der Fokus der Untersuchungen liegt daher auf den Saccharosepartikeln.

Zunächst werden Modellsuspensionen von Saccharose in Kakaobutter mit unterschiedlicher Art der Zerkleinerung der Partikel hergestellt. Die Partikeloberflächen werden mit der Rasterkraftmikroskopie (AFM) hinsichtlich Oberflächentopographie sowie der Adhäsivität und exemplarisch auch in Bezug auf die lokalen Phasenübergangstemperaturen charakterisiert.

Des Weiteren werden die makroskopischen Fließeigenschaften der Modellsuspensionen untersucht. Im Hinblick auf Gleichgewichtsviskosität und Fließgrenze wird erneut ein Vergleich zwischen unterschiedlichen Zerkleinerungsarten und einer unzerkleinerten Referenzprobe vorgenommen. Die Bestimmung des Anteils an Kakaobutter, welche an Partikeloberflächen und in Feststoffagglomeraten immobilisiert ist, soll die Resultate der makroskopischen Charakterisierung mit den Ergebnissen der mikroskopischen Untersuchungen der Partikeloberflächen verknüpfen.

In einem nächsten Schritt wird die Veränderung der Partikeloberflächen und Suspensionseigenschaften durch Anlagerung von Emulgatoren untersucht. Dazu werden wiederum Modellsuspensionen hergestellt, denen jeweils unterschiedliche Emulgatoren zugesetzt werden. Die Partikel werden in der lipophilen Phase und in Anwesenheit des Emulgators mit der Kugelmühle zerkleinert. Diese Art der Zerkleinerung wurde gewählt, da sie eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Suspensionsherstellung ermöglicht. Zudem

wird der Kontakt der frischen Partikeloberflächen mit der Atmosphäre weitestgehend vermieden, was bei der Walzenzerkleinerung nicht immer der Fall ist. Als Emulgatoren dienen die in der Schokoladenherstellung relevanten Substanzen PGPR sowie Zitronensäureester mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren. Ebenso wird das Sojalecithin als Referenz sowie das Sonnenblumenlecithin als Alternative zum Sojalecithin untersucht.

Neben der Oberflächentopographie wird wiederum die Veränderung der Adhäsivität mittels AFM erfasst. Des Weiteren werden mit der AFM die Schichtdicken der Emulgatoren abgeschätzt. Außerdem werden die an den Partikeloberflächen adsorbierten Gehalte an Emulgator quantitativ ermittelt und sowohl mit den Fließeigenschaften der Suspensionen, den Anteilen an immobilisiertem Fett sowie den Ergebnissen der AFM-Untersuchungen korreliert. So werden weitere Erkenntnisse über die Wirkungsweise der Emulgatoren, insbesondere des PGPR, erlangt. Außerdem werden detaillierte Betrachtungen zur Veränderung der Partikeloberflächen durch Anlagerung von Lecithin vorgenommen. Sie sollen die bisherigen Annahmen zur Wirkungsweise und Wechselwirkung mit zerkleinerten Saccharosepartikeln auf molekularer Ebene bestätigen. Dazu werden außerdem kinetische Untersuchungen zur Anlagerung dieses Emulgators an die zerkleinerten Saccharosekristalle durchgeführt.

Anhand der Ergebnisse aus den Untersuchungen einzelner Emulgatoren sollen dann Rückschlüsse über sinnvolle Emulgatorkombinationen gezogen werden, die einen adäquaten Ersatz für das Sojalecithin darstellen können. Dazu müssen die Wechselwirkungen der Emulgatoren untereinander sowie mit der Kakaobutter und der Saccharoseoberfläche charakterisiert werden. Hierfür werden entsprechende Emulgatorgemische in Kakaobutter-Saccharose-Suspensionen eingesetzt, die Zerkleinerung erfolgt ebenfalls mit der Kugelmühle. Es werden wiederum die veränderten Oberflächentopographien der Saccharosepartikel und die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen charakterisiert. Des Weiteren werden der Anteil an immobilisiertem Fett sowie die an die Partikeloberflächen adsorbierten Emulgatorgehalte bestimmt. Abschließend werden die Ergebnisse dann im Hinblick auf den möglichen Ersatz des Sojalecithins diskutiert.

3 Ergebnisse und Diskussion

Insbesondere die Fließeigenschaften von Suspensionen hängen stark von Größe und Form der suspendierten Partikel ab [74]. Neben einer vergleichbar großen Partikeloberfläche ist daher auch eine entsprechende Partikelgrößenverteilung notwendig, um die Fließeigenschaften der auf unterschiedliche Art hergestellten Modellsuspensionen vergleichen zu können. Daher wurden die Partikel in sämtlichen Suspensionen auf vergleichbare Größenverteilungen eingestellt. 90 % des Gesamtvolumens bestand dabei aus Partikeln, die kleiner als 30 μm und 50 % des Gesamtvolumens aus Partikeln, die kleiner als 10 μm waren ($d_{90} = 30 \mu\text{m}$ sowie $d_{50} = \text{max. } 10 \mu\text{m}$). Ebenso wurde darauf geachtet, dass die Partikel in den Suspensionen eine möglichst vergleichbar große spezifische Oberfläche besitzen.

3.1 Zerkleinerung von Saccharosepartikeln in lipophilen Modellsuspensionen

Der Einfluss einer Zerkleinerung der Saccharose in lipophiler Matrix wurde anhand von Modellsuspensionen untersucht. Zu deren Herstellung wurde die Saccharose in aufgeschmolzene Kakaobutter gegeben und die Zerkleinerung direkt in dieser lipophilen Phase durchgeführt. So wurde gewährleistet, dass der durch die Zerkleinerung erzeugte Oberflächenzustand der Partikel erhalten blieb und nicht durch Luftfeuchtigkeit beeinflusst wurde (z.B. Rekristallisation amorpher Bereiche [73]). Im Anschluss an die Zerkleinerung erfolgte das Conchieren der gesamten Suspension (vgl. Kap. 6.3).

Abb. 3.1 zeigt zunächst die Partikelgrößenverteilung als Volumenverteilung in einer conchierten Kakaobutter-Saccharose-Suspension, deren Saccharosekristalle nicht zerkleinert wurden. Es ist eine sehr breite Verteilung von 0,5 bis 300 μm erkennbar.

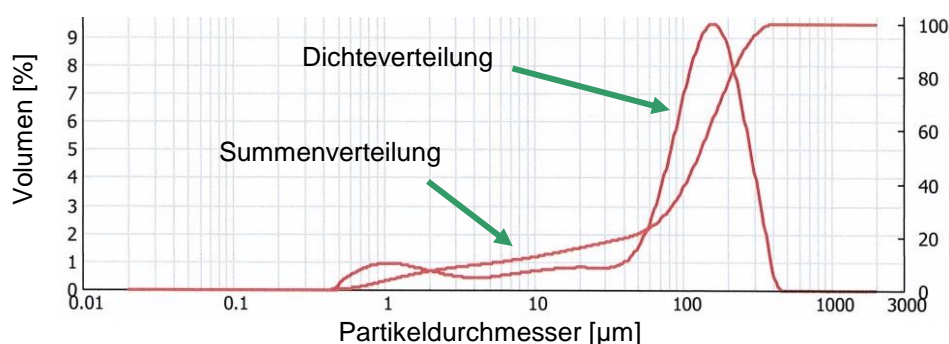


Abb. 3.1: Ergebnis der Partikelgrößenanalyse einer Suspension mit unzerkleinerten Saccharosepartikeln, Volumenverteilung dargestellt als Dichteverteilung und Summenverteilung

Die Parameter der Verteilung sind $d_{90} = 257 \mu\text{m}$ sowie $d_{50} = 126 \mu\text{m}$. Die Partikel besitzen eine spezifische Oberfläche von $0,59 \text{ m}^2/\text{g}$ sowie einen Sauterdurchmesser von $10,74 \mu\text{m}$. Der Sauterdurchmesser ist ein hypothetischer Wert und beschreibt einen Äquivalentdurchmesser bezogen auf kugelförmige Partikel gleicher Größe, die die gleiche spezifische Oberfläche besitzen wie die Gesamtheit der Partikel in der Probe.

Durch eine Zerkleinerung mit beispielsweise einer Kugelmühle (Kugeldurchmesser $1,5 \text{ cm}$) wird erwartungsgemäß eine Verschiebung der Verteilung hin zu kleineren Partikeldurchmessern erreicht (vgl. Abb. 3.2), die Partikelgrößenverteilung ist nun bimodal. Auch die auf andere Art zerkleinerten Saccharosepartikel in den Kakaobuttersuspensionen weisen eine bimodale Verteilung mit vergleichbaren Peakverhältnissen auf (vgl. Kap. 8.1 im Anhang auf S. 131).

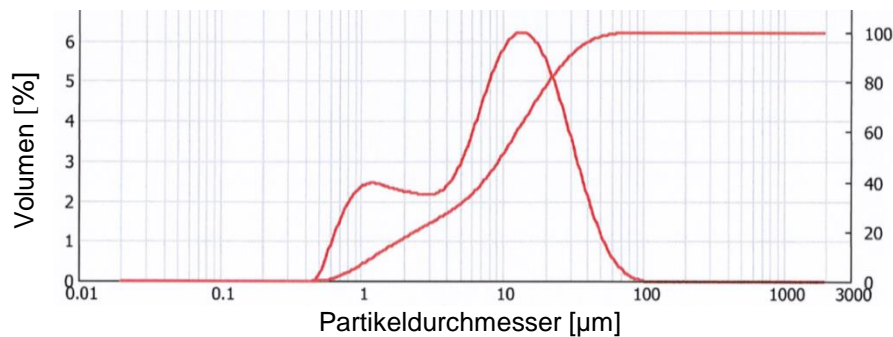


Abb. 3.2: Ergebnis der Partikelgrößenanalyse am Beispiel der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Kugelmühle ($\varnothing 1,5 \text{ cm}$) zerkleinert wurden

Abb. 3.3 zeigt außerdem, dass die auf unterschiedliche Art zerkleinerten Saccharosepartikel dieser Suspensionen neben einem vergleichbaren Sauterdurchmesser auch eine vergleichbare spezifische Oberfläche aufweisen. Wie bereits eingangs erwähnt, ist dies für die Beurteilung der nachfolgend beschriebenen Ergebnisse zwingend notwendig.

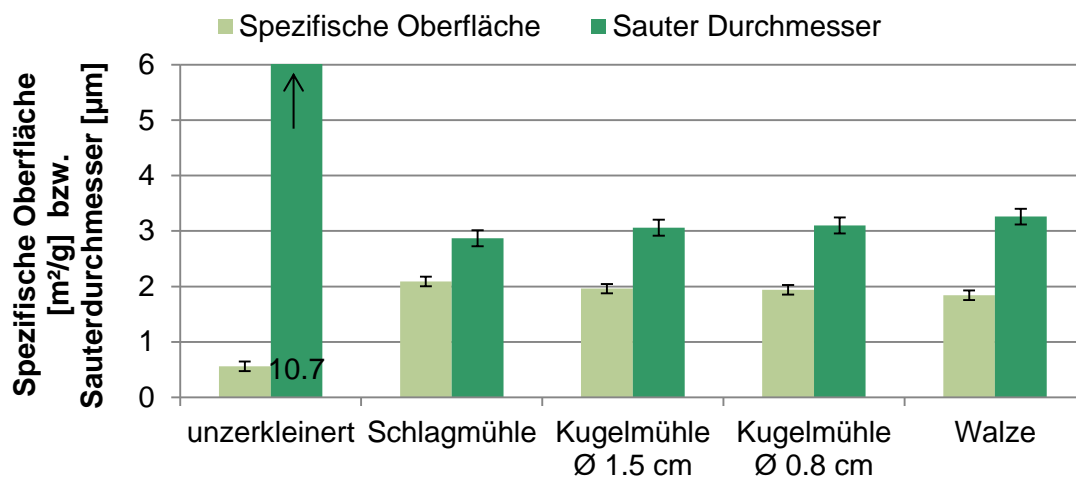


Abb. 3.3: Sauterdurchmesser und spezifische Oberfläche der Saccharose nach der Zerkleinerung

3.1.1 Einfluss der Zerkleinerung auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel

3.1.1.1 Topographische Charakterisierung der Saccharosepartikeloberflächen mittels Rasterkraftmikroskopie

Um einen ersten Überblick über die Oberflächentopographie von zerkleinerter Saccharose zu erhalten, wurden zunächst die Bruchflächen eines Kandiskristalls untersucht, welcher mit einem Hammer in flüssiger Kakaobutter zertrümmert worden war. Auf diese Weise konnten größere Saccharosebruchstücke erhalten werden, die ohne aufwendige Probenvorbereitung direkt in einer Matrix aus flüssiger Kakaobutter vorbereitet und gemessen werden konnten.

Eine resultierende Bruchfläche ist beispielsweise in Abb. 3.4 gezeigt. Eine Stufenhöhe wurde anhand eines Topographiequerschnittes an der mit dem Pfeil markierten Stelle zu 23 Å ermittelt (vgl. Abb. 3.4 c).

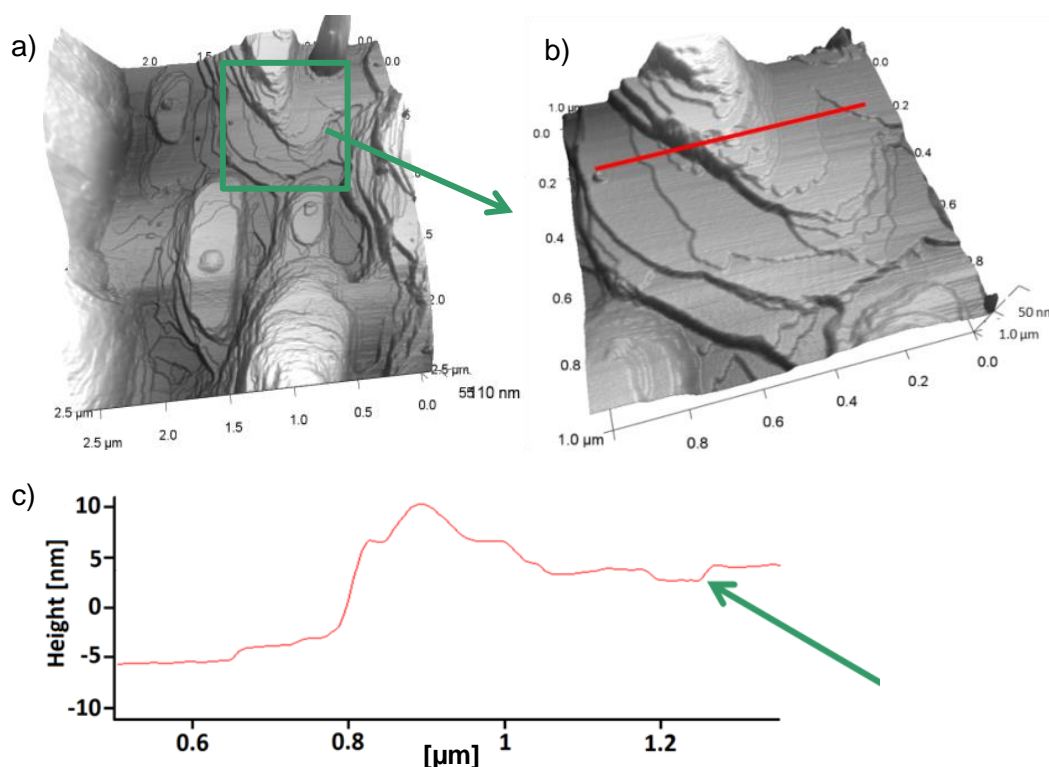


Abb. 3.4: a) Topographie einer in flüssiger Kakaobutter erzeugten Bruchfläche eines Saccharosekristalls, b) Ausschnittvergrößerung des markierten Bereiches von a), c) Querschnitt der Topographie an markierter Stelle in b)

Der Vergleich mit dem molekularen Aufbau der Elementarzelle eines Saccharosekristalls (vgl. Abb. 1.7) zeigt, dass die ermittelte Stufenhöhe der Höhe zweier Elementarzellen bzw. vier Saccharosemolekülen entspricht. Die Stufen resultieren demnach aus dem Wachstum des Kristalls.

Die Oberfläche der Saccharosekristalle weist neben den Stufenmustern auch übergeordnete Strukturen in Form von Senken und geschichteten plattenartigen Erhebungen auf (vgl. Abb. 3.4 a). Diese wurden bereits in anderen Arbeiten näher untersucht und sind auch auf einem unzerkleinerten Saccharosekristall zu finden. Sie sind auf lokale Spannungsfelder zurückzuführen, die z.B. durch Fremdatome oder –moleküle entstehen [75]. Diese Kristalldefekte können eine plastische Verformung des Gitters hervorrufen, wodurch Versetzungen entstehen, die ins Kristallgitter laufen und Spannungen abbauen. Bei einer Stufenversetzung wird dabei eine unvollständige Netzebene in ein bestehendes Gitter eingeschoben. Diese Netzebene endet in einer Versetzungslinie. Eine weitere Art von Versetzung entsteht durch Scherspannung. Aus teilweisem Gleiten zweier Netzebenen übereinander entsteht so eine Versetzungslinie, die nun in Richtung der Scherkraft verläuft und ebenfalls in der Gleitebene liegt (Schraubenversetzung). Am häufigsten treten Versetzungen aber als eine Kombination aus Stufen- und Schraubenversetzungen auf. Die Versetzungslinie kann in diesen Fällen von Oberfläche zu Oberfläche verlaufen oder auch einen geschlossenen Ring im Gitter bilden [76,77]. Aufgrund der Unregelmäßigkeit im Kristallgitter sollten an diesen Stellen die Wechselwirkungen der Saccharosemoleküle untereinander abgeschwächt sein. Aus energetischer Sicht wäre also ein Bruch durch einen Zerkleinerungsvorgang dort stark begünstigt. Durch den Bruch würden die Versetzungen, die vorher innerhalb des Kristallgitters auftraten, auf der Oberfläche als Stufenstrukturen sichtbar werden.

Um den Einfluss der verschiedenen Zerkleinerungsarten auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel mittels AFM zu untersuchen, mussten die Partikel zunächst präpariert werden. Aufgrund ihrer geringen Größe konnten sie nicht direkt in der Kakaobutterphase für die Mikroskopie vorbereitet werden. Sie mussten zunächst über eine Zentrifugation separiert und anschließend mit Hexan von anhaftenden Kakao-butterresten befreit werden. Dann erst konnten die Partikel auf einem Träger befestigt und gemessen werden. Sowohl während der Präparation als auch während der Messungen wurde grundsätzlich in einer Atmosphäre aus trockenem Stickstoff gearbeitet, um eine Veränderung der Oberflächen durch Luftfeuchtigkeit zu verhindern.

Eine für die jeweilige Zerkleinerungsart repräsentative Oberflächentopographie ist in Abb. 3.5 dargestellt.

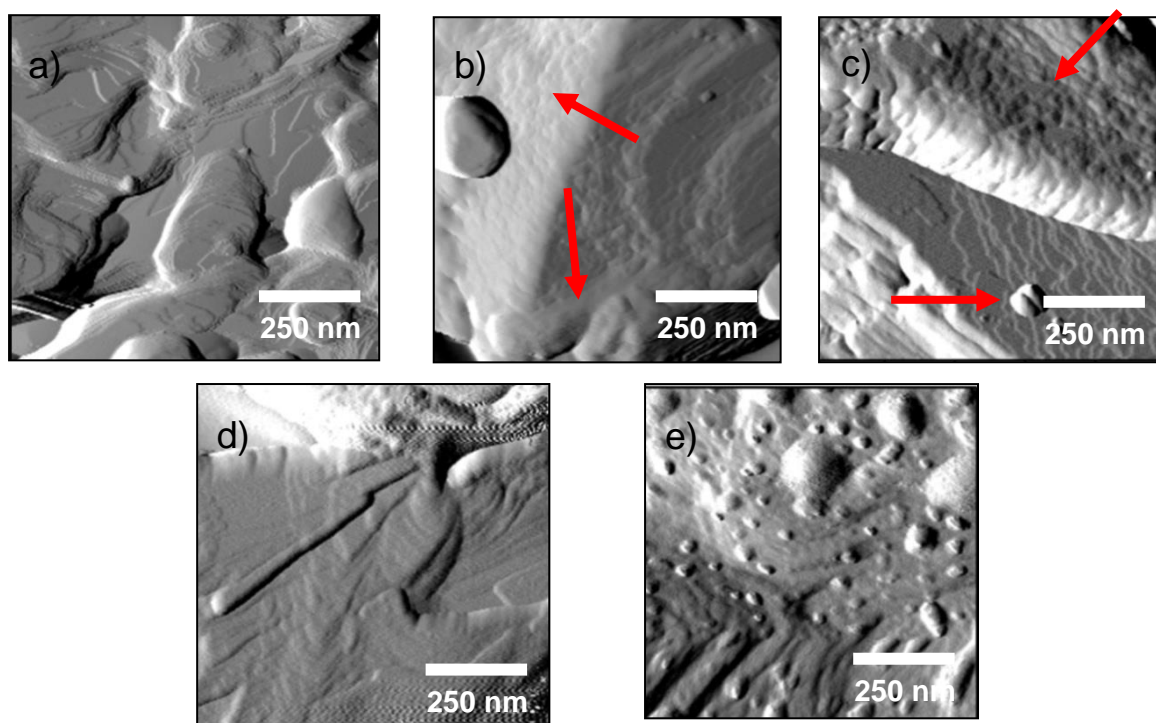


Abb. 3.5: Vergleich repräsentativer Aufnahmen der Oberflächentopographie von Saccharose nach Zerkleinerung mittels a) Schlagmühle, b) Kugelmühle Ø 1,5 cm, c) Kugelmühle Ø 0,8 cm sowie d) Walzenstuhl mit der Oberflächentopographie eines e) unzerkleinerten Saccharosepartikels, Erläuterung der Markierungen siehe Text

Abb. 3.5 a) zeigt eine Topographie von mittels Schlagmühle zerkleinerten Saccharosepartikeln. Es ist ebenfalls die in Abb. 3.4 a) dargestellte Stufenstruktur des Saccharosekristalls zu erkennen. Auch die Oberfläche der mittels Kugelmühle zerkleinerten Partikel weist stufenartige Strukturen auf. Des Weiteren sind aber auch Oberflächenbereiche zu finden, die stark „zermahlen“ aussehen (vgl. Abb. 3.5 a und b). Diese Bereiche können entweder durch die bereits oben genannten Versetzungen entstanden sein oder auch eine amorphe Struktur aufweisen (vgl. Markierungen in Abb. 3.5 b). Eine genauere Charakterisierung ist an dieser Stelle nicht möglich. Dieses Phänomen wird später eingehender untersucht (vgl. Kap. 3.1.1.3).

Um zu prüfen, ob diese Oberflächeneigenschaften von der Größe und damit auch von der Masse der zur Zerkleinerung eingesetzten Kugeln abhängig sind, wurden zusätzlich Kugeln mit einem Durchmesser von 0,8 cm verwendet. Im Vergleich der Topographien zeigt sich, dass die Oberfläche „unruhiger“ wirkt, sie ist stärker strukturiert. Es finden sich kleinere Auflagerungen, aber auch die stufenartigen Strukturen sind auszumachen (vgl. Markierungen in Abb. 3.5 c).

Bei der Zerkleinerung mittels Kugelmühle findet durch impulsartig einwirkende Spannungen ein Spröbruch statt, durch den teilweise stufenartige Strukturen entstehen. Jedoch ist zu beachten, dass neben diesen impulsartigen Spannungen auch starke, lokale

Temperaturerhöhungen während des Zerkleinerungsvorgangs auftreten [78]. Durch die Zerkleinerung kommt es für einen Bruchteil einer Sekunde zu extrem hohen Temperaturen von bis zu mehreren hundert Grad direkt an der Bruchkante [78]. Dadurch werden die oberen Lagen von Saccharosemolekülen geschmolzen und verfestigen sich in einem lockeren und ungeordneten, amorphen Zustand (vgl. Abb. 1.9). Die durch Zerkleinerung hervorgerufenen, amorphen Strukturen werden somit durch einen Schmelz- und Verfestigungsprozess erzeugt [6]. Dies kann ebenfalls zur Entstehung der weniger strukturierten Oberflächenbereiche führen.

Die Zerkleinerung mit der Walze erfolgt durch starke Scherspannung mit geringen Deformationsgeschwindigkeiten. Die daraus resultierende Temperaturerhöhung bewirkt wiederum ein Anschmelzen der Partikeloberfläche, wodurch fließende Strukturen auftreten. Diese sind charakteristisch für die Topographie nach Walzenzerkleinerung (vgl. Abb. 3.5 d). Sie sind im Gegensatz zu den Strukturen nach Kugelmühlengerkleinerung eher vergleichbar mit einer Art amorphem Glas. Die auch hier wieder sichtbaren Stufenstrukturen passen sich diesem „Fluss“ an. Auch nach Walzenzerkleinerung besteht die Möglichkeit, dass durch die starke Scherbeanspruchung lokale Versetzungen im Kristall entstehen und so Brüche an diesen Stellen auftreten. Dadurch werden ebenfalls Oberflächenbereiche erzeugt, deren funktionelle Eigenschaften sich von denen der unzerkleinerten Partikel stark unterscheiden.

Auf der Oberfläche von unzerkleinerten Saccharosepartikeln (vgl. Abb. 3.5 e) sind Stufen eher selten zu finden. Diese wirken, wenn vorhanden, auch eher grob und sind nicht so fein strukturiert, wie nach einer Zerkleinerung. Zudem befinden sich auf den unzerkleinerten Partikeloberflächen viele kleinere und größere Erhebungen, die auch bereits in einer früheren Arbeit erkannt und als Mikropartikel beschrieben wurden [75].

3.1.1.2 Bestimmung der Oberflächenadhäsivität von Saccharosepartikeln mittels Rasterkraftmikroskopie

Zur weiteren Charakterisierung der Partikeloberflächen wurde die Adhäsivität zwischen der Probenoberfläche und der AFM-Messspitze (Silizium) über sogenannte Kraft-Abstands-Kurven ermittelt. Diese wurden rasterartig über die zu untersuchende Probenoberfläche verteilt gemessen und eine Kraft-Karte entstand (vgl. Kap. 1.5.3 sowie [62]).

Die Vielzahl der gemessenen Kraft-Karten wurde zunächst auf Rohdatenbasis ausgewertet. Dazu wurde mit der AFM-Software das Histogramm jeder einzelnen Kraftkarte erstellt, in Bezug auf die Zerkleinerungsart und Reproduzierbarkeit beurteilt und nach vergleichbaren Häufigkeitsverteilungen sortiert. Diese Histogramme sind in den Abbildungen Abb. 3.6 bis Abb. 3.10 anhand ausgewählter, repräsentativer Beispiele für die

verschiedenen Zerkleinerungsarten dargestellt. Außerdem wurde zu ausgewählten Histogrammen das entsprechende Topographiebild dargestellt. So wurde dem Kräftebereich ebenfalls eine repräsentative Oberflächentopographie zugeordnet.

Die Beurteilung der Daten wird über einen Vergleich der Verteilungsbreiten und die Lage von maximalen Häufigkeiten bestimmter Kräfte vorgenommen. Abb. 3.6 zeigt die Häufigkeitsverteilungen für einen unzerkleinerten Saccharosekristall. Es zeigen sich zwei Kräftebereiche. Der erste Bereich liegt bei geringen Kräften (5 – 20 nN) und zeigt eine enge Verteilung mit großen Häufigkeiten. Der zweite Bereich liegt bei höheren Kräften und zeigt eine breite Verteilung (20 - >50 nN). Dies steht in guter Übereinstimmung mit der Oberflächentopographie. Für den engen Bereich bei geringeren Kräften liegt eine feine Oberflächenstruktur mit wenigen Auflagerungen vor. Der breite Kräftebereich bei hohen Kräften ist den grob strukturierten Oberflächen zuzuordnen.

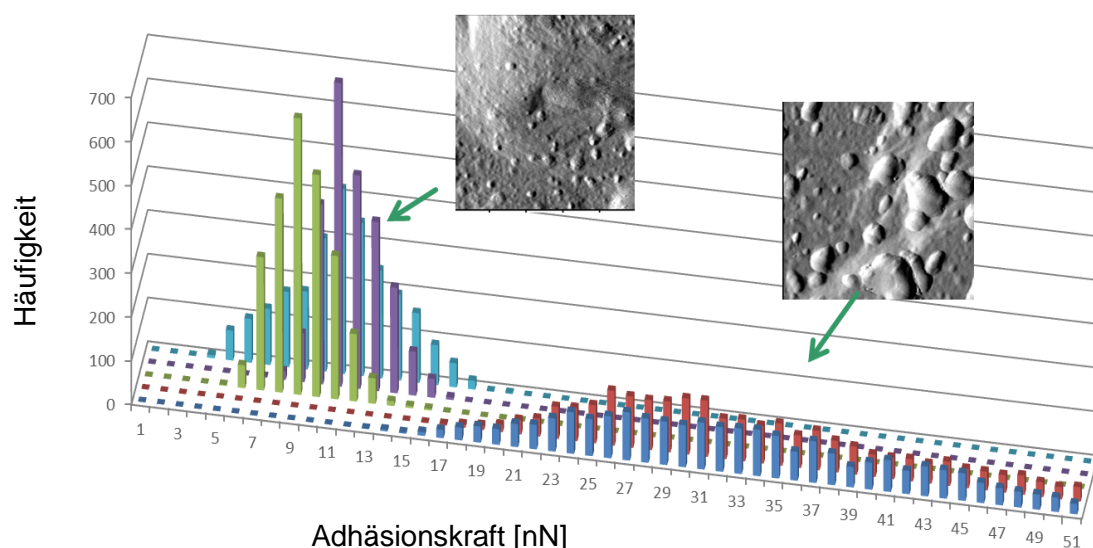


Abb. 3.6: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an unzerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm , jede Farbe entspricht der Auswertung einer Kraftkarte

Nach der Zerkleinerung mit der Schlagmühle ergibt sich die in Abb. 3.7 dargestellte Verteilung. Insgesamt zeigt sich ein engeres Kraftspektrum. Die Kräfte liegen überwiegend in Bereichen zwischen 5 und 25 nN. Eine Korrelation der Kräftebereiche zur Oberflächenstruktur ist auch bei zerkleinerter Saccharose möglich. Geringe Kräfte mit einer schmalen Verteilung sind auf die scharf abgegrenzten Stufenstrukturen zurückzuführen. Jedoch treten auch eng verteilte, stärkere Kräfte auf; diese sind mit einer weniger strukturierten Oberfläche in Verbindung zu bringen. Bei diesen Oberflächen handelt es sich nach ersten Annahmen um amorphe Bereiche.

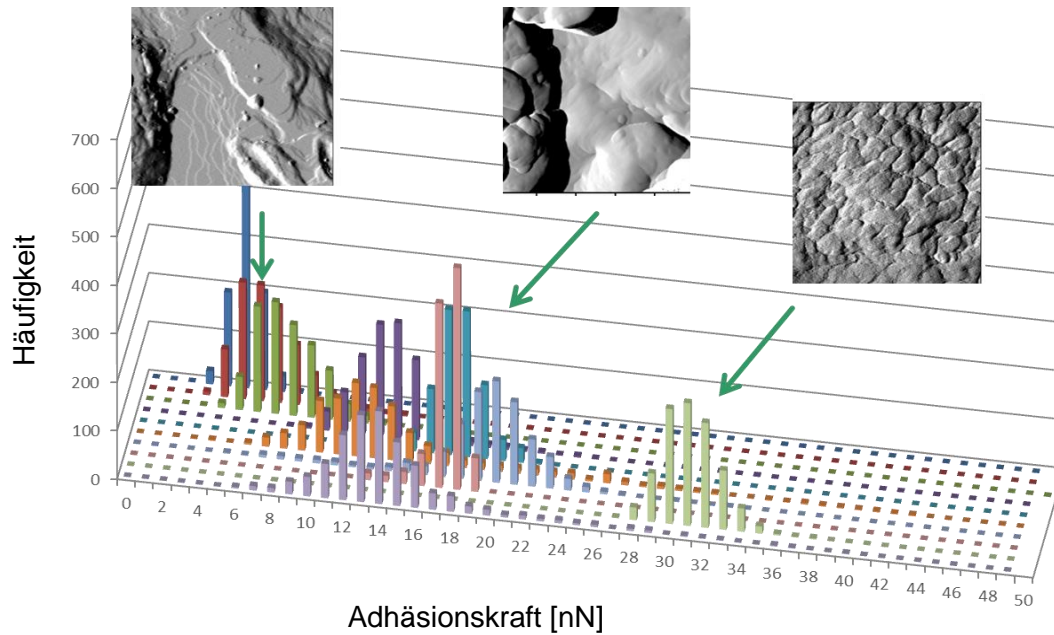


Abb. 3.7: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Schlagmühle zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm

Auch nach Zerkleinerung in der Kugelmühle (Kugel-Ø 1,5 cm) werden Histogramme der Adhäsivität erstellt (vgl. Abb. 3.8). Jedoch ist nach dieser Art der Zerkleinerung die Breite der einzelnen Verteilungen deutlich größer. Die Kräfte liegen hier im Bereich zwischen 5 und > 50 nN. Jedoch ist der Bereich der Kräfte unter 10 nN bei dieser Art der Zerkleinerung kaum vertreten. Es werden dementsprechend weniger sauber abgegrenzte Stufenstrukturen gefunden. Dies spricht dafür, dass Oberflächen unterschiedlicher Charakteristik vorliegen. Dies könnten sowohl amorphe oder kristalline Bereiche als auch Mischstrukturen sein.

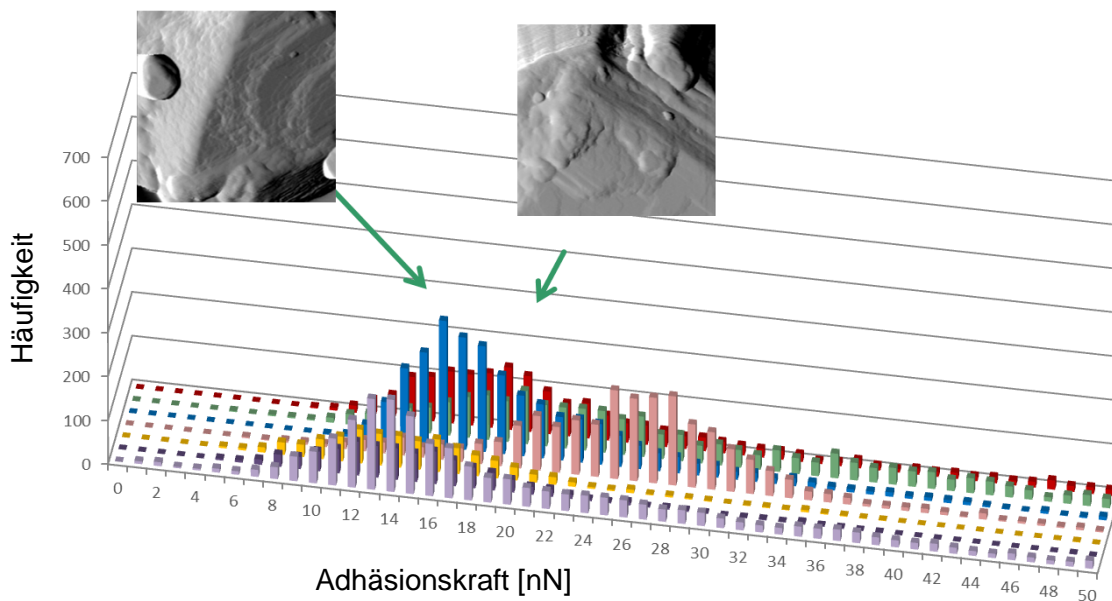


Abb. 3.8: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugel-Ø 1,5 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm

Bei den Proben, die mit der Kugelmühle und einem Kugeldurchmesser von 0,8 cm zerkleinert wurden, zeigt sich ein etwas anderes Bild (vgl. Abb. 3.9). Die Kräfteverteilung liegt insgesamt betrachtet zwischen 5 und 40 nN, allerdings können die Histogramme in 2 bis 3 Kräftebereiche eingeteilt werden. Tendenziell sind wieder engere Kräftebereiche sowohl bei höheren als auch bei niedrigeren Kräften auszumachen. Wie ersichtlich, liegen etwas differenziertere Oberflächen im Vergleich zur Saccharose, die mit Kugeldurchmesser 1,5 cm gemahlen wurde, vor.

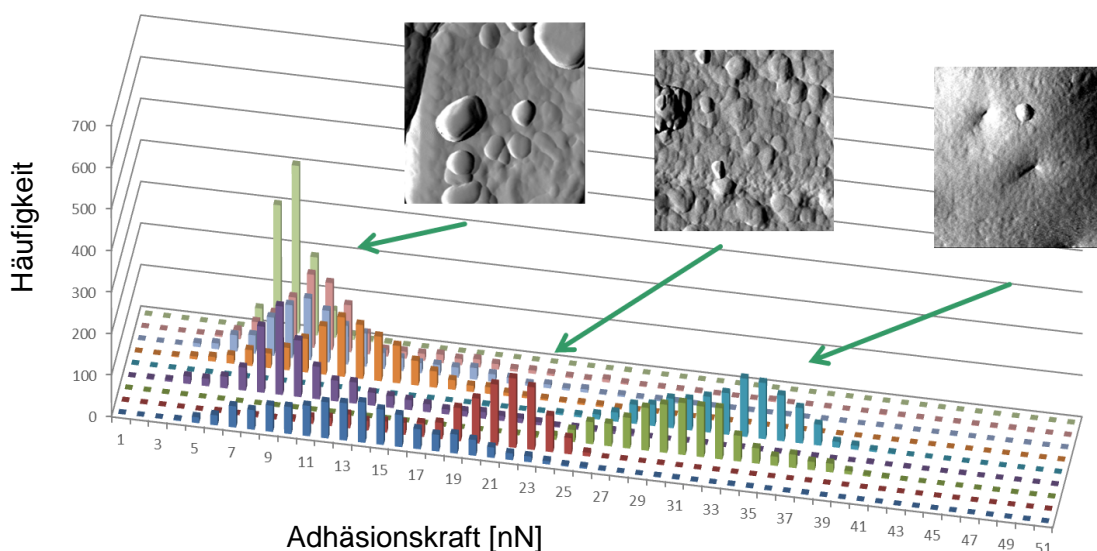


Abb. 3.9: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmessers 0,8 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm

Die Kräftebereiche auf der mit Walze zerkleinerten Saccharoseoberfläche sind hingegen vielmehr bei höheren Kräften angesiedelt, wobei die Bereiche insgesamt etwas breiter sind (vgl. Abb. 3.10). Der Bereich unter ca. 10 nN ist nicht belegt und deutlich abgegrenzt (roter Kreis in Abb. 3.10). Dies lässt darauf schließen, dass es zwar strukturierte Oberflächenbereiche gibt, die aber messtechnisch von einer etwas größeren „Überstruktur“ beeinflusst werden: die stufenartigen Strukturen sind sozusagen unter größeren Erhebungen verborgen, was auch an dem Topographiebild links oben in Abb. 3.10 deutlich wird.

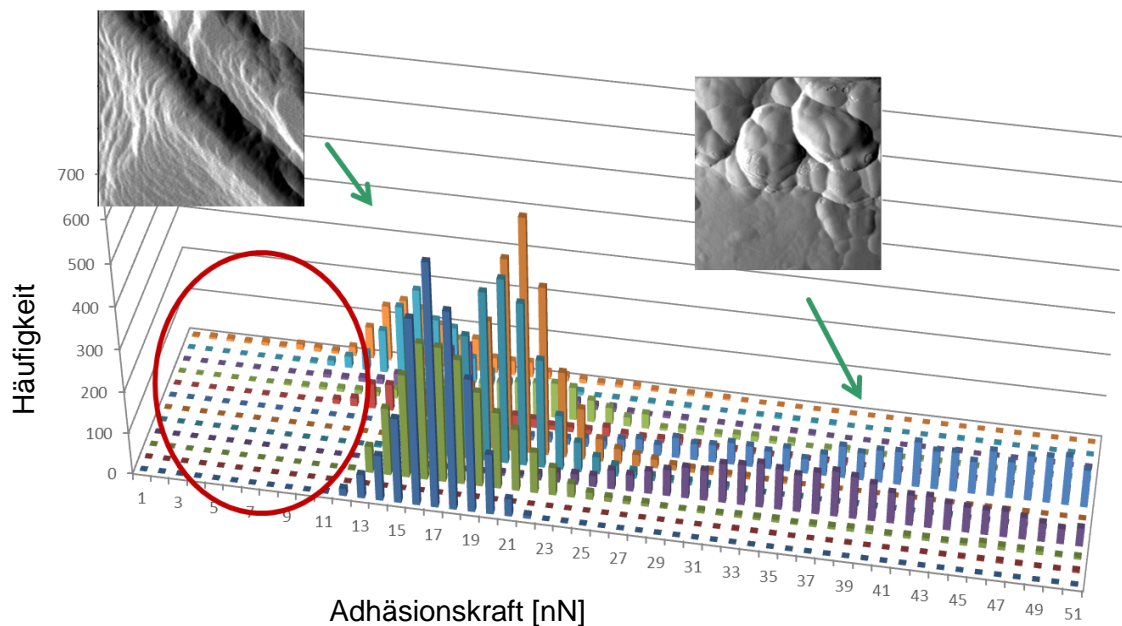


Abb. 3.10: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit einem Walzenstuhl zerkleinerten Saccharosepartikeln, Scangröße 1x1 μm

Der Oberflächenzustand nach Walzenzerkleinerung ist somit nicht direkt vergleichbar mit dem nach Zerkleinerung durch die Kugel- oder die Schlagmühle. Es kann vielmehr davon ausgegangen werden, dass Bereiche von z.B. unterschiedlicher Polarität vorhanden sind.

3.1.1.3 Charakterisierung der Saccharosepartikel hinsichtlich amorpher und kristalliner Zustände nach Kugelmühlengerkleinerung

Wie bereits durch die Topographie- und Adhäsivitätsmessungen angedeutet, erzeugt die Zerkleinerung der Saccharosepartikel Oberflächenbereiche mit unterschiedlichen Eigenschaften. Diese Oberflächenveränderungen sollen am Beispiel der Kugelmühlengerkleinerung auf amorphe und kristalline Strukturen untersucht werden.

Dazu wurde zunächst vollständig amorphe Saccharose durch Eintropfen in Flüssigstickstoff und anschließender Gefriertrocknung erzeugt. Der amorphe Zustand wurde mit Hilfe der DSC kontrolliert (vgl. Abb. 8.6, blaue Kurve). Dann wurde ein Topographiescan durchgeführt. Anschließend wurde die Luftfeuchtigkeit direkt in der Messzelle mit gesättigter NaCl-Lösung auf ca. 75 % rH erhöht und für 12 h konstant gehalten, um eine Rekristallisation der Probe auszulösen. Der Vergleich desselben Oberflächenbereichs vor (amorph) und nach (kristallin) der Erhöhung der Luftfeuchtigkeit ist in Abb. 3.11 links dargestellt.

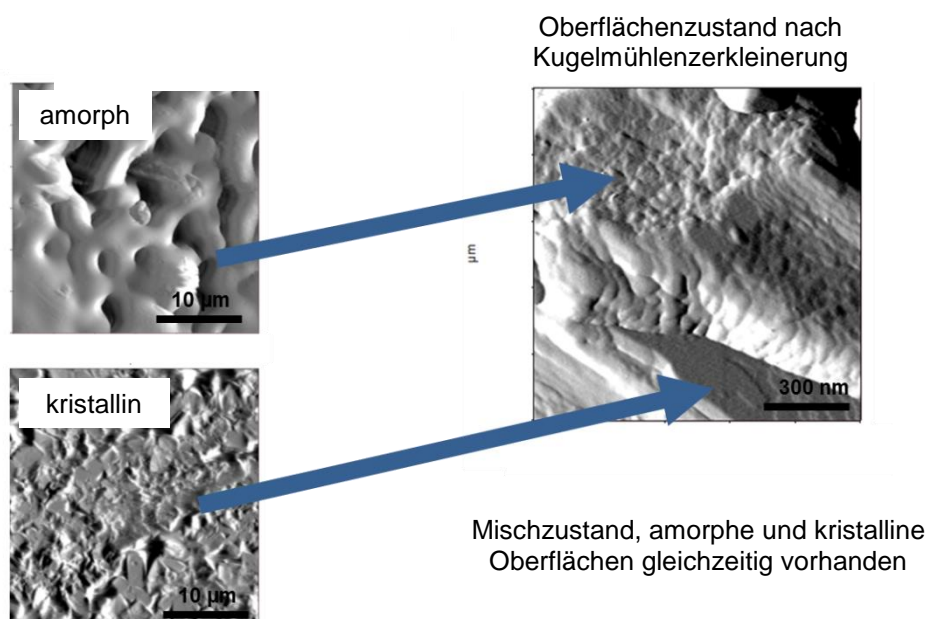


Abb. 3.11: Veränderung einer amorphen Saccharoseoberfläche durch Rekristallisation und Vergleich mit dem Oberflächenzustand nach Kugelmühlzerkleinerung, Topographieaufnahmen mittels AFM

Zur Messung der kristallisierten Oberflächen konnte die Luftfeuchtigkeit jedoch nicht wieder auf den Wert von 11 % rH reduziert werden. Dazu hätte die Probe aus der Messzelle ausgebaut und diese vollständig gereinigt werden müssen. Daher wurde die NaCl-Lösung abgesogen und bei ca. 50 % rH im Semikontakt Modus gemessen. So ist zwar die Bestimmung der Oberflächentopographie artefaktfrei möglich, aber es kann keine reproduzierbare Adhäsivitätsmessung erfolgen. Jedoch zeigt auch der Topographiescan schon charakteristische Veränderungen, die auf den Unterschied zwischen amorph und kristallin zurückzuführen sind. Zudem sind beide Oberflächenbereiche auch in dem beispielsweise mit der Kugelmühle zerkleinerten Partikel wiederzufinden (vgl. Abb. 3.11, rechts). Diese Oberflächen stellen somit Mischzustände dar, in denen sowohl amorphe als auch kristalline Areale vertreten sind.

Lokale thermische Analyse (LTA)

Um die lokal unterschiedliche Verteilung amorpher und kristalliner Oberflächenbereiche auf der mittels Kugelmühle zerkleinerten Probe zu detektieren, wurde eine relativ neue Methode der Rasterkraftmikroskopie angewendet. Mit Hilfe einer lokalen thermischen Analyse können die Glasübergangs- und Schmelztemperaturen über die thermische Ausdehnung und anschließende Erweichung der Probenoberfläche ermittelt werden (vgl. Kap. 1.5.4). Der Glasübergang ist dabei charakteristisch für amorphe Substanzen und findet in einem bestimmten Temperaturbereich statt. Kristalline Substanzen besitzen diesen Glasübergang nicht. Sie sind charakterisiert durch ihren Schmelzpunkt.

Die LTA mittels AFM wurde bereits erfolgreich zur Charakterisierung von Gemischen amorpher und kristalliner Lactose im pharmazeutischen Bereich eingesetzt [80,81]. Diese Methode wurde nun auf die mittels Kugelmühle zerkleinerten Partikeloberflächen übertragen. Für die Bestimmung der lokalen Erweichungstemperaturen nach thermischer Ausdehnung der Probenoberfläche war eine Kalibration der Spitze notwendig. Da es sich bei dem zu untersuchenden Probenmaterial um Saccharose handelte, wurden zur Kalibration vier Saccharide mit unterschiedlichen Schmelzpunkten bzw. Glasübergangstemperatur verwendet. Diese wurden zuvor mittels DSC bestimmt (vgl. Kap. 6.4.6.7 sowie Kap. 8.3 im Anhang auf S. 133). Eine entsprechende Kalibration mit zugehöriger Regressionsgerade ist exemplarisch in Abb. 3.12 gezeigt. Diese Kalibration muss für jede Spitze sowie auch tagesaktuell wiederholt werden [66].

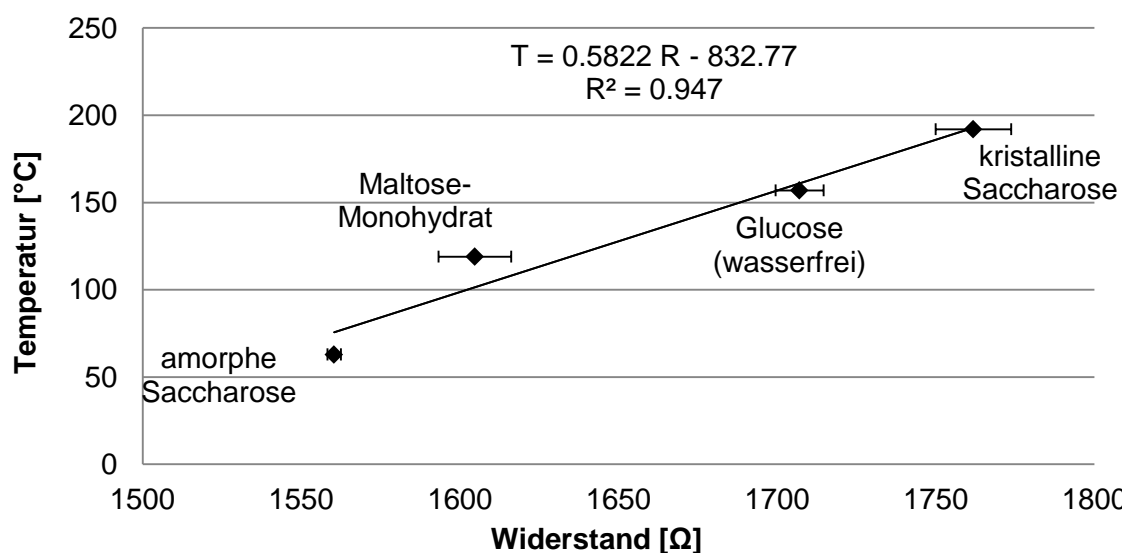


Abb. 3.12: Regressionsgerade für die lokale thermische Analyse mittels AFM; erstellt aus der Korrelation des mittels AFM-Messspitze bestimmten Widerstandes sowie der Schmelz- bzw. Glasübergangstemperatur verschiedener, niedrigmolekularer Kohlenhydrate bestimmt mittels DSC; Abweichung angegeben als Standardabweichung

In dem zur Charakterisierung der Probenoberfläche erforderlichen Temperaturbereich kann der Zusammenhang zwischen der Erweichungstemperatur der Probenoberfläche und dem an der Spitze gemessenen Widerstand (vgl. auch Kap. 1.5.4) als linear betrachtet werden. Aus dem Widerstand können dann die Glasübergangs- bzw. Schmelztemperaturen der Proben errechnet werden.

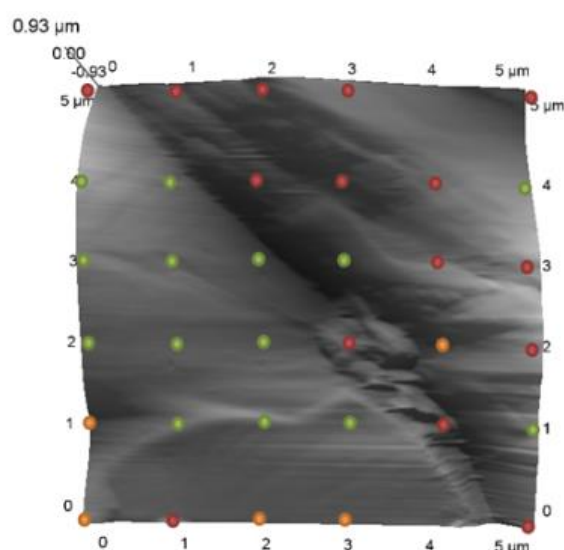
Auf dieser Grundlage konnte nun die Partikeloberfläche auf amorphe und kristalline Bereiche untersucht werden. Zunächst wurde ein Topographiescan der Oberfläche durchgeführt, danach wurden in diesem Bereich 36 gleichmäßig verteilte Messpunkte festgelegt, auf denen jeweils eine LTA durchgeführt wurde (vgl. Abb. 3.13). Über die Kalibriergerade konnte dann für jeden ermittelten Widerstand aus der LTA die entspre-

chende Temperatur für den Glasübergang amorpher und die Schmelztemperatur kristalliner Anteile errechnet werden.

Aufgrund der Standardabweichung der Kalibration sowie der Abweichungen der Messwerte wurden folgende Temperaturbereiche für die Zuordnung der Oberflächenzustände festgelegt:

- 60 – 90 °C entspricht amorphen Oberflächenbereichen
- 155 – 190 °C entspricht kristallinen Oberflächenbereichen
- 90 – 155 °C entspricht Mischzuständen

In Tab. 3.1 sind die aus der Berechnung über die Kalibriergerade ermittelten Erweichungstemperaturen für jeden einzelnen Messpunkt aus Abb. 3.13 links in einer Matrix dargestellt. Die farbliche Markierung der Zahlen entspricht der Zuordnung zu dem jeweiligen Temperaturbereich und somit den Oberflächenzuständen amorph (Glasübergangstemperatur), Mischzustand und kristallin (Schmelztemperatur). Diese Bereiche sind wiederum anhand ihrer Farbe auf dem Topographiebild in Abb. 3.13 markiert.



Tab. 3.1: Glasübergangs- und Schmelztemperaturen an den LTA-Messpunkten aus Abb. 3.13, Messunsicherheit jeweils ± 7 °C

86	84	78	76		71
163	170	71	71	71	169
179	176	167	150	74	78
178	181	178	86	127	72
132	171	171	165	71	168
111	87	141	139		83

Abb. 3.13: links: Topographie von mittels Kugelmühle zerkleinerter Saccharose mit der Punktzuordnung für die einzelnen LTA, rechts: graphische Zuordnung der Temperaturbereiche zu der Oberflächentopographie, rot \triangle amorpher, orange \triangle teilamorpher, grün \triangle kristalliner Oberflächenbereich

Wie schon in der Literatur beschrieben, zeigen diese Ergebnisse ebenfalls, dass die Oberflächenbereiche der Saccharose durch eine Zerkleinerung amorphisiert wurden [73,78]. Allerdings zeigt diese Methode nun ergänzend, dass in einem bestimmten Oberflächenareal unterschiedliche Oberflächenzustände vorliegen können. In dem in Abb. 3.13 gezeigten Areal von 5 x 5 µm wurden sowohl kristalline als auch amorphe Bereiche und Mischzustände gefunden. Der Wechsel zwischen dem eher amorphen und dem eher kristallinen Bereich findet in diesem konkreten Fall auf einer Breite von etwa

2 μm satt. Dies entspricht ca. 2000 Saccharosemolekülen in einem geordneten Kristall (vgl. Abb. 1.7). Des Weiteren deutet sich am unteren Bildrand bereits ein erneuter Wechsel von einem kristallinen zu einem amorphen Oberflächenbereich an.

Diese Erkenntnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen der Adhäsivitätsbestimmung auf der Partikeloberfläche von mittels Kugelmühle zerkleinerter Saccharose: Bei einer regelmäßigen Anordnung der Moleküle - wie z.B. in kristallinen Strukturen unzerkleinerter Saccharosepartikel oder nach Schlagmühlenzerkleinerung - traten häufiger geringe Kräfte in einem engen Bereich unterhalb von etwa 10 nN auf (vgl. Histogramme in Abb. 3.6 und Abb. 3.7). Diese konnten stufenartigen Strukturen zugeordnet werden. Dies ist auch insofern plausibel, als dass sich auf diesen geordneten Strukturen weniger Möglichkeiten der Wechselwirkung zwischen Spitze und Probenoberfläche ergeben als bei ungeordneten amorphen Zuständen (vgl. auch Abb. 1.9). Daher war zu erwarten, dass die Adhäsivität auf den Bereichen scharf abgegrenzter Stufenstrukturen eines Kristalls geringer ausfällt.

Eine erhöhte Wechselwirkung zwischen Spitze und Probenoberfläche kann wie bereits angedeutet z.B. durch die unregelmäßige Anordnung der Moleküle auf amorphen Oberflächenbereichen hervorgerufen werden. So wurden auf einer Partikeloberfläche nach der Zerkleinerung mit der Kugelmühle Bereiche sehr unterschiedlicher Adhäsivität gefunden (vgl. Abb. 3.8), die eher unregelmäßig geformten Oberflächentopographien zugeordnet werden konnten. Auf Grundlage der oben dargestellten Ergebnisse handelte es sich bei diesen Oberflächen um größtenteils amorphe Areale, welche aber von kristallinen Oberflächenbereichen unterbrochen wurden bzw. Mischzustände darstellten. Diese verschiedenen Oberflächen riefen unterschiedliche Adhäsionskräfte hervor, die sich über den abgetasteten Bereich verteilten. Aus diesem Grund konnte eine breite Verteilung der Kräfte erhalten werden.

Der Zustand nach Walzenzerkleinerung stellte sich etwas anders dar. Aufgrund der engen Kräftebereiche bei Adhäsionskräften von etwas über 10 nN konnte der betreffende Oberflächenbereich als eher einheitlich strukturiert angenommen werden (vgl. Abb. 3.10). Die breite Verteilung bei höheren Adhäsionskräften ließ auf weniger differenzierte Mischzustände bzw. wenig scharf abgegrenzte amorphe und kristalline Areale schließen. Dies konnte durch die LTA bislang allerdings nicht eindeutig nachgewiesen werden. Erste Messungen bestätigen jedoch diese Annahmen (Daten nicht gezeigt).

3.1.1.4 Fettimmobilisierung an Saccharosepartikeln

Auch auf makroskopischer Ebene wurden die Veränderungen an den Partikeloberflächen durch Wechselwirkung mit der umgebenden Fettphase charakterisiert. Dies erfolgte durch die Bestimmung des immobilisierten Fettanteils, welcher neben der Partikelgröße auch von der Partikelform und den durch eine Zerkleinerung entstehenden, unterschiedlichen Polaritäten auf den Partikeloberflächen abhängt. Des Weiteren werden die Fließeigenschaften der gesamten Suspension bei gleichem Feststoffanteil entscheidend davon beeinflusst, wie viel Fett an der Oberfläche der dispersen Partikel immobilisiert wird und somit für den Fließvorgang nicht zur Verfügung steht.

Nach Windhab [14] kann zwischen zwei Arten der Fett- bzw. Flüssigkeitsimmobilisierung unterschieden werden: Immobilisierung an der Partikeloberfläche und volumenartig immobilisierter Flüssigkeitsanteil. Der an einer Partikeloberfläche immobilisierte Anteil ist dabei auf molekulare und kolloidale Wechselwirkungen zwischen Feststoffpartikeln und flüssiger Phase sowie zwischen Molekülen der flüssigen Phase selbst zurückzuführen. Durch diese Wechselwirkungen wird eine größere Zahl von Molekülschichten der Flüssigkeit aufgebaut, die als an der Partikeloberfläche immobilisiert betrachtet werden können. Im Gegensatz dazu ist der volumenartig immobilisierte Flüssigkeitsanteil den Hohlräumen oder Vertiefungen von Partikeln sowie inneren Leerstellen (Toträumen) in Partikelagglomeraten zuzuschreiben.

Ein indirektes Maß für beide Arten der Immobilisierung ist der Anteil an Fett bzw. Flüssigkeit, der sich durch Zentrifugation der Suspension abtrennen lässt. Je größer dieser Anteil ist, desto weniger Fett ist an Partikeln und in Toträumen von Agglomeraten gebunden. Dieses Verfahren wurde u.a. von Scheruhn [82,83,84] für die Bestimmung des abzentrifugierbaren Fettanteils in kakaobutterhaltigen Suspensionen erfolgreich angewendet. Wie weiterhin in der Literatur beschrieben, hängen die Ergebnisse der Fettimmobilisierung bei gleichem Feststoffanteil der Suspensionen stark von der Partikelgrößenverteilung ab [74]. Diese wurde daher in den zu untersuchenden Suspensionen weitestgehend vereinheitlicht (vgl. Kap. 3.1) und der abzentrifugierbare Fettanteil auf die jeweilige Partikeloberfläche bezogen. Auf diese Weise war es möglich, den Einfluss von unterschiedlichen Zerkleinerungsarten auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel vergleichend zu charakterisieren.

Als Referenzprobe diente eine Suspension mit unzerkleinerten Saccharosepartikeln. Die Ergebnisse sind in Abb. 3.14 graphisch dargestellt, die Standardabweichung dieser Methode wurde aus den Einzelwerten von drei Versuchen zur Zerkleinerung mittels Kugelmühle abgeschätzt (vgl. Tab. 6.2 in Kap. 6.3.2, Kugeldurchmesser 1,5 cm, abzentrifugier-

barer Fettanteil ca. 45 - 55 %, entspr. 3 - 4,5 g). Der limitierende Faktor bei der Genauigkeit der Werte für den immobilisierten Fettanteil liegt jedoch in der Berechnung der Partikeloberfläche. Diese wird mittels Laserbeugung auf Grundlage einer Kugelform bestimmt (vgl. Kap. 6.4.1), von der jedoch die erzeugten Partikel z.T. stark abweichen können. Wichtig für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist daher die exakte Einhaltung aller Versuchsbedingungen einschließlich Probenhandhabung (siehe Kap. 6.4.2).

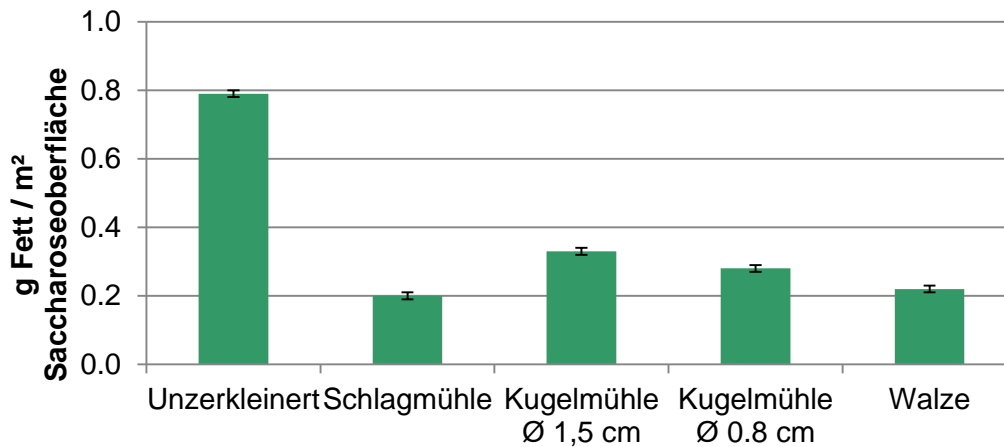


Abb. 3.14: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett der Saccharosepartikel aus den Suspensionen ohne Emulgatorzusatz vor und nach Zerkleinerung der Saccharose

Wie bereits oben beschrieben, spielt die Partikelgrößenverteilung bei gleichem Feststoffanteil der Suspension eine wesentliche Rolle für die Fettimmobilisierung. Dies zeigt sich beim Vergleich der unzerkleinerten Saccharose mit den zerkleinerten Partikeln. So wurde für die unzerkleinerte Saccharose mit ca. 0,6 g/m² eine 2,5 - 3,5fach größere Fettimmobilisierung als für die zerkleinerte Saccharose gefunden. Dieser erhöhte Wert ist jedoch nicht auf veränderte Oberflächeneigenschaften zurückzuführen. Durch die größeren Partikel liegen weniger Partikel-Partikel-Kontakte vor und die Kakaobutter wird im Sediment nach Zentrifugation in den vergleichsweise großen Toträumen zwischen den Partikeln festgehalten. Sie ist nicht ausschließlich an den Oberflächen immobilisiert (vgl. Abb. 3.15 a).

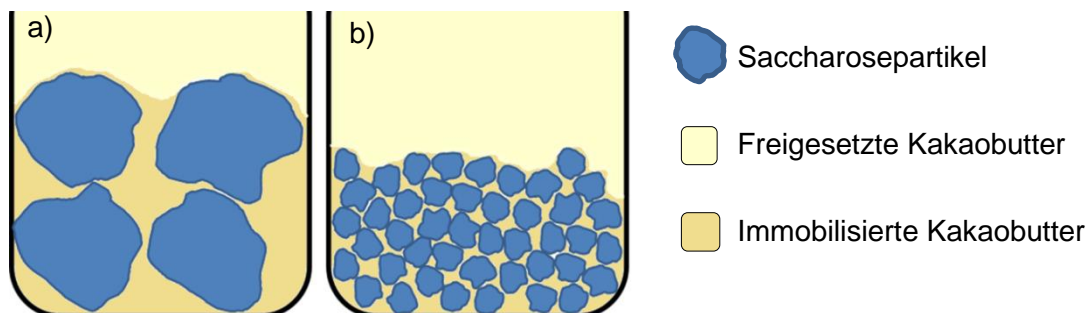


Abb. 3.15: Modellvorstellung zur Fettimmobilisierung in Abhängigkeit von der Partikelgröße und -oberfläche der Saccharose nach Zentrifugation für a) unzerkleinerte Partikel und b) zerkleinerte Partikel

Zerkleinerte Partikel besitzen eine größere Gesamtoberfläche bei gleichem Volumenanteil. Dadurch bildet sich bei gleichen Zentrifugationsparametern ein dichteres Sediment mit vielen Partikel-Partikel-Kontakten [85]. Durch diese zerkleinerungsbedingte Kompaktierung des Sediments kann weniger Kakaobutter in Toträumen zwischen den Partikeln festgehalten werden. Diese sind deutlich kleiner, sodass eine geringere Fettimmobilisierung resultiert (vgl. Abb. 3.15 b) [15].

Im Vergleich der Zerkleinerungsarten weisen die Partikel, die mit Hilfe der Walze und der Schlagmühle zerkleinert wurden, die höchste Fettfreisetzung auf. Da die Größe der spezifischen Oberfläche aller Saccharosepartikel nach Zerkleinerung aber vergleichbar ist (vgl. Abb. 3.3), handelt es sich hier um einen Einfluss, der je nach Zerkleinerungsart aus unterschiedlichen Veränderungen der Oberflächeneigenschaften (z.B. Amorphisierung) resultiert.

3.1.2 Einfluss der Zerkleinerung auf die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen

Auch in Bezug auf die Fließeigenschaften der Suspensionen wurden die Auswirkungen unterschiedlicher Zerkleinerungsverfahren verglichen. Die Auswertung wurde mit dem Programm RheoStar vorgenommen [57]. Als mathematisches Modell für die Berechnung der Fließkennwerte wurde das Modell nach Tscheuschner verwendet. Dabei ist die Fließgrenze diejenige Schubspannung τ bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 0,1 \text{ s}^{-1}$, Gleichgewichtsviskosität wird bestimmt bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} \approx > 200 \text{ s}^{-1}$.

Wie bereits beschrieben, werden die Fließeigenschaften der Suspensionen in hohem Maße von der Form und der Größe der Partikel beeinflusst [86] (vgl. auch Kap. 1.1). Daher kann das Ergebnis für die Suspension mit unzerkleinerten Partikeln nicht direkt mit denen zerkleinerter Partikel verglichen werden. Da aber die Partikelgrößenverteilungen der zerkleinerten Suspensionen gleich waren, sind die beobachteten Unterschiede in den Fließeigenschaften direkt den durch die Zerkleinerung veränderten Partikeloberflächen zuzuordnen. Die Ergebnisse für die Gleichgewichtsviskosität und die Fließgrenze sind in Abb. 3.16 dargestellt.

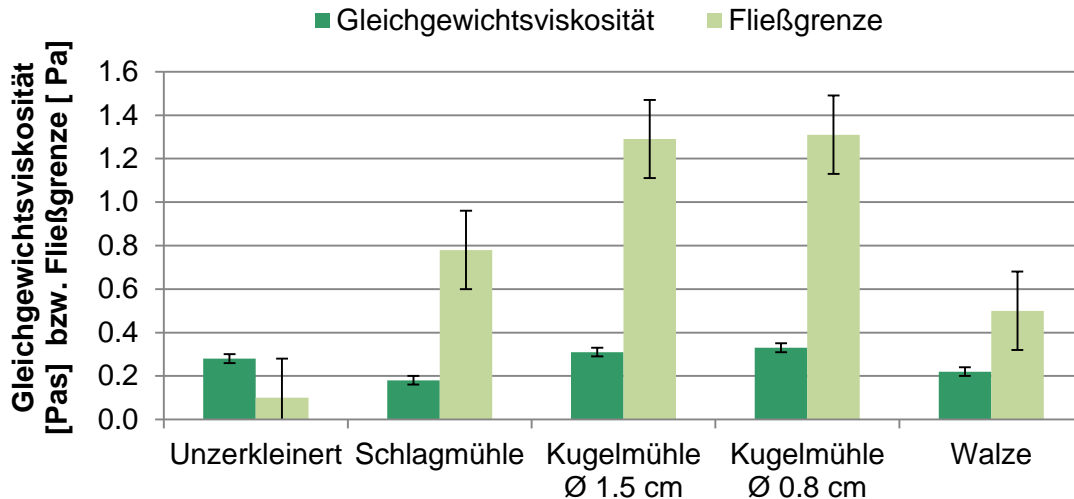


Abb. 3.16: Gleichgewichtsviskosität und Fließgrenze der Suspensionen ohne Emulgatorzugabe nach unterschiedlicher Zerkleinerungsart der Feststoffe

Die zunächst relativ hoch erscheinende Standardabweichung für die Fließgrenze von über 10 % (vgl. Tab. 6.2 in Kap. 6.3.2) bezieht sich dabei nicht nur auf die Messung selbst, sondern auch auf die Varianz bei Herstellung der Suspensionen; z.B. eine leicht abweichende Partikelgrößenverteilung, die niemals zu 100 % vergleichbar einzustellen war. Wie anhand von Abb. 3.16 allerdings ersichtlich, können dennoch deutliche Unterschiede zwischen den Modellsuspensionen festgestellt werden. So zeigt sich, dass die Suspension mit unzerkleinerter Saccharose die geringste Fließgrenze aufweist. Bei größeren Partikeln mit kleiner Gesamtoberfläche bezogen auf einen bestimmten Volumenanteil sind die Partikel-Partikel-Wechselwirkungen so gering, dass die Partikel sehr leicht aneinander vorbei gleiten. Somit ist nur eine geringe Scherspannung notwendig, um die Suspension zum Fließen zu bringen. Die Suspensionen mit zerkleinerten Saccharosepartikeln verhalten sich jedoch anders. Auch hier gilt wieder, dass durch die Zerkleinerung eine größere Gesamtoberfläche bei gleichem Volumenanteil erreicht wird. Dadurch nehmen die Partikel-Partikel-Wechselwirkungen zu und eine höhere Scherspannung ist notwendig, damit die Suspension ins Fließen übergeht [57].

Im Vergleich bewirkt die Kugelmühlenzerkleinerung die höchste Fließgrenze. Durch diese Art der Zerkleinerung wurden die Partikel also derart verändert, dass starke interpartikuläre Wechselwirkungen vorherrschen. Im Gegensatz dazu zeigt die Suspension nach Walzenzerkleinerung die geringste Fließgrenze. Die interpartikulären Wechselwirkungen der Saccharoseoberflächen sind herabgesetzt.

In Bezug auf die Gleichgewichtsviskosität kann bei den Suspensionen nach Anwendung der Walze und der Schlagmühle eine leichte Verringerung gegenüber den anderen Zerkleinerungsarten festgestellt werden. Der Einfluss der Zerkleinerung auf die Fließgrenze ist jedoch insgesamt deutlich größer.

Wie auch bereits die Ergebnisse der Bestimmung der Fettimmobilisierung (vgl. Abb. 3.14) sowie der rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen gezeigt haben (vgl. Abb. 3.5 d sowie Abb. 3.10), kommt der Zerkleinerung mit der Walze auch im Falle der Fließeigenschaften wieder eine Sonderstellung zu. Die Partikeloberflächen werden bezüglich ihrer Polarität durch diese Art der Zerkleinerung derart verändert, dass ihre Eigenschaften für die Schokoladenherstellung als besonders vorteilhaft angesehen werden können [87] (vgl. Kap. 3.1.1.2, z.B. Aromasorption [6]). Dieser Aspekt verdeutlicht, warum für die Herstellung qualitativ hochwertiger Schokoladen die Walzenzerkleinerung favorisiert wird (vgl. Kap. 1.1).

3.2 Veränderung der Saccharoseoberflächen durch Anlagerung einzelner Emulgatoren

Um den Einfluss einer Emulgatoranlagerung auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel und die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen zu untersuchen, wurden zunächst einzelne Emulgatoren verwendet. Im Hinblick auf die Schokoladenherstellung wurden Polyglycerin-Polyricinolat (PGPR), Zitronensäureester mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren (ZSE) sowie Soja- und Sonnenblumenlecithin eingesetzt. Eine detaillierte Charakterisierung dieser Substanzen (molekulare Struktur, Molmasse, HLB-Wert, etc.) ist in Kap. 1.2 zu finden.

Die im Rahmen dieser Fragestellungen untersuchten Modellsuspensionen wurden analog Kap. 6.2 hergestellt. Die Saccharosepartikel sämtlicher Suspensionen wurden zunächst mit der Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinert und anschließend conchiert. Dabei ist hervorzuheben, dass der Emulgator bzw. das Emulgatorgemisch bereits während der Zerkleinerung anwesend war. Dann erfolgte die Probenpräparation für die Rastserkraftmikroskopie.

Wichtige Aspekte bei der Probenvorbereitung für die AFM

Für die AFM-Analytik mussten die Saccharosepartikel der Suspensionen zunächst von der Kakaobuttermatrix abgetrennt und für die Fixierung vorbereitet werden. Dazu wurden die Modellsuspension zentrifugiert und die so abgetrennten Saccharosepartikel mit wasserfreiem Aceton fettfrei gewaschen (vgl. Kap. 6.4.6.1). Hexan konnte in diesem Falle nicht verwendet werden, da es nicht nur das Fett, sondern auch die adsorbierten Emulgatoren nahezu vollständig wieder von den Partikeloberflächen ablösen würde. Eine Charakterisierung der Auflagerungen wäre somit nicht mehr möglich. Da die Phos-

pholipide des Lecithins in Aceton aber unlöslich sind, bleiben sie auf den Partikeloberflächen adsorbiert.

Im Gegensatz zum Hexan hat das Aceton jedoch einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf die Oberflächeneigenschaften unbelegter Saccharosepartikel. Nach Niediek [73] führt es zu einer Rekristallisation amorpher Oberflächenbereiche. Um dieses Verhalten zu überprüfen, wurde zunächst amorphe Saccharose durch Eintropfen in Flüssigstickstoff hergestellt und mittels DSC untersucht (vgl. Kap. 6.4.7 und 6.4.4). Der Glasübergang wird durch die Stufe im Kurvenverlauf bei ca. 63 °C angezeigt, der Peak bei ca. 106 °C ist der Kristallisation zuzuordnen [88] (vgl. Abb. 3.17, Kurve a, blau).

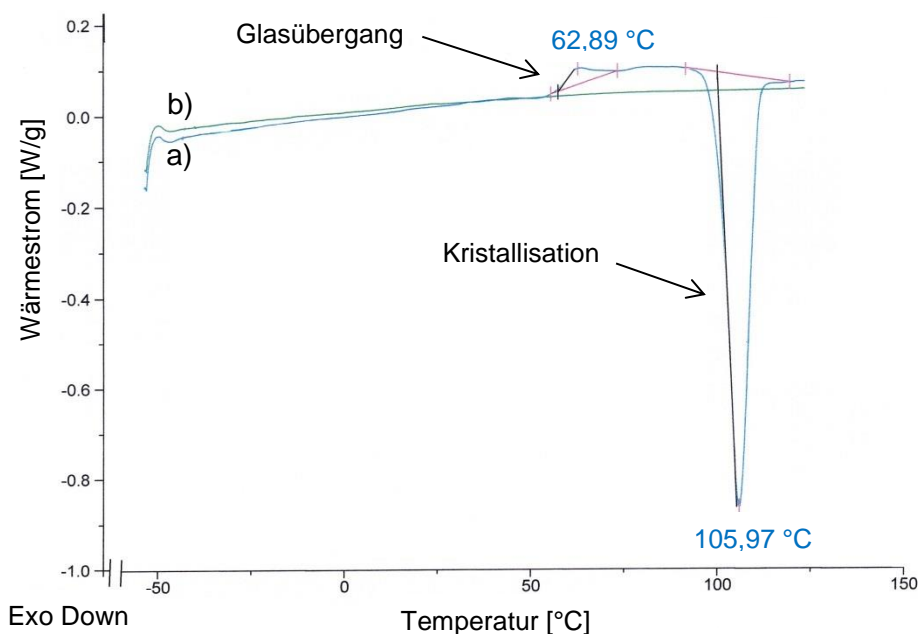


Abb. 3.17: DSC-Kurven von a) amorpher sowie von durch b) Aceton rekristallisierter Saccharose

Dieselbe Saccharoseprobe wurde mit wasserfreiem Aceton (99,8 %, siehe Kap. 6.2) gewaschen und bei < 1 % rH Raumtemperatur getrocknet. Die erneute DSC-Messung zeigte nun weder einen Glasübergang noch einen Kristallisationspeak (vgl. Abb. 3.17, Kurve b, grün). Somit wurde die Rekristallisation der amorphen Saccharose durch die Anwendung von Aceton nochmals bestätigt. Allerdings kann keine eindeutige Aussage darüber getroffen werden, ob eine vollständige Rekristallisation stattgefunden hat, oder ob kleinste Teilbereiche der Oberfläche im amorphen Zustand geblieben sind. Die Messgenauigkeit der zur Verfügung stehenden DSC war für eine Detektion amorpher Bereiche nach einer Zerkleinerung nicht ausreichend. Der Anteil der erzeugten amorphen Strukturen bezogen auf die Gesamtmasse der Partikel war zu gering. Bei Anwendung von Hexan konnte eine solche Rekristallisation nicht gefunden werden (vgl. Abb. 8.7 im Anhang auf S.134).

Obwohl das Aceton den Oberflächenzustand der Saccharosepartikel in gewissem Maße verändert, kann jedoch aus oben genannten Gründen nicht darauf verzichtet werden. Dies spielt aber für den Anlagerungsprozess keine Rolle, denn der Emulgator ist bereits während der Zerkleinerung anwesend und kann sich je nach Affinität sowohl an amorphe als auch an kristalline Bereiche auf der Saccharoseoberfläche anlagern. Die Veränderung durch Aceton betrifft die Oberflächen erst nachdem sich der Emulgator angelagert hat.

3.2.2 Einfluss auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel

Auch im Falle der mit Emulgatoren versetzten Suspensionen werden die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie untersucht. Es wurden sowohl die Oberflächentopographie als auch die Adhäsivität der Partikeloberflächen bestimmt.

3.2.2.1 Topographische Charakterisierung der Saccharosepartikeloberflächen mittels Rasterkraftmikroskopie

Abb. 3.18 zeigt eine Auswahl repräsentativer Oberflächentopographien der Saccharosepartikel aus der Suspension mit Zusatz von Zitronensäureestern. Neben deutlich geglätteten Strukturen sind außerdem die nach Schlag- und Kugelmühlengerückbildung bekannten Stufen zu erkennen. Diese Bereiche stellen demnach die unbelegte Saccharoseoberfläche dar (vgl. Abb. 3.5).

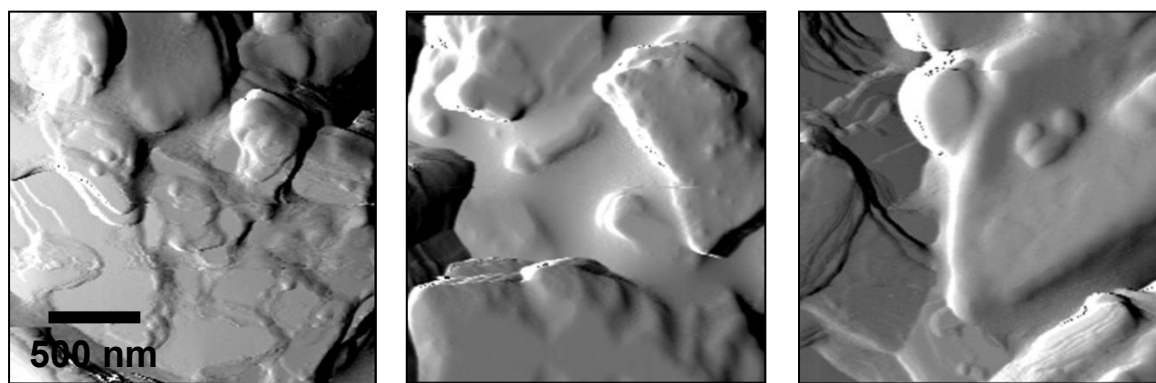


Abb. 3.18: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von Zitronensäureestern zerkleinerten Saccharose

Bei Anwendung von PGPR in der Modellsuspension sind auf den Partikeloberflächen nur sehr selten stufenartige Strukturen zu finden (vgl. Abb. 3.19). Die Oberfläche wirkt insgesamt geglättet, aber es zeigen sich auch tropfenförmige Auflagerungen. Bereits dieser optische Eindruck lässt eine Belegung der Oberflächen mit PGPR erkennen.

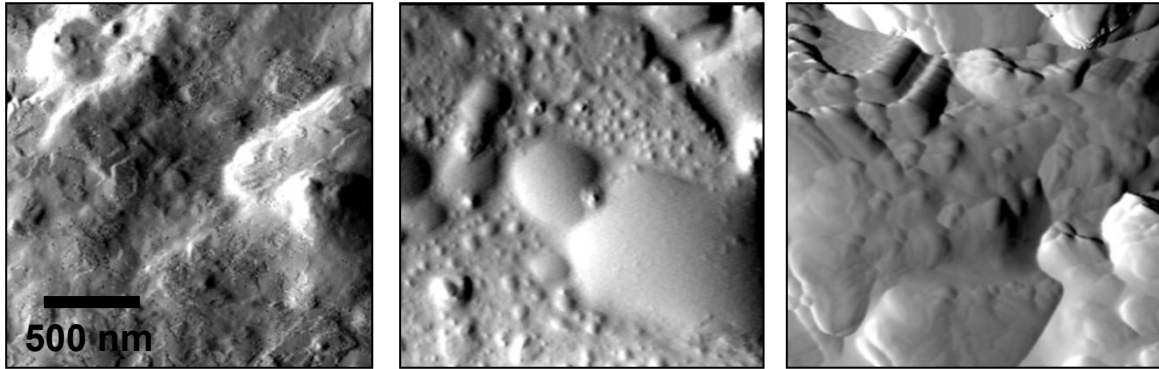


Abb. 3.19: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von PGPR zerkleinerten Saccharose

Die topographische Untersuchung der mit Sojalecithin belegten Oberflächen zeigt zwar stufenartige Strukturen, die aber als Artefakte aufgrund steiler Kanten zu beurteilen sind (vgl. roten Pfeil in Abb. 3.20). In den meisten Fällen kann durch ein Querschnittsbild ähnlich Abb. 3.4 zwischen Artefakt und realen Strukturen unterschieden werden. Ein Beispiel findet sich im Anhang 8.4 auf S. 140). Die artefaktfreie Topographie zeigt ebenfalls kaum stufenartige Strukturen (vgl. grünen Pfeil in Abb. 3.20). Die Darstellungen lassen auf eine vergleichsweise hohe Belegung mit Emulgatoren schließen.

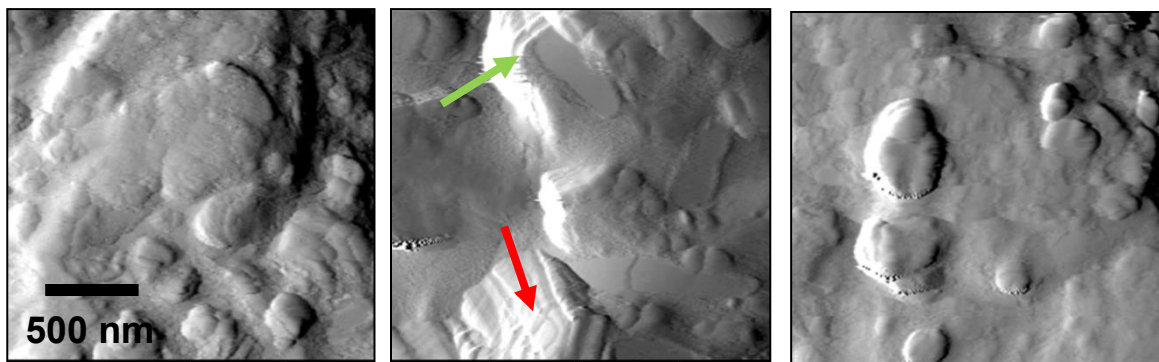


Abb. 3.20: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von Sojalecithin zerkleinerter Saccharose, Erläuterung der Markierungen siehe Text

Die Oberfläche der mit Sojalecithin belegten Partikel ähnelt der mit Sonnenblumenlecithin belegten Partikel (vgl. Abb. 3.21). Auch hier sind teilweise Artefakte zu erkennen (rote Pfeile), die nicht mit Stufen (grüner Pfeil) verwechselt werden dürfen. Aufgrund dieser Topographiebilder wäre die Oberflächenbelegung als vergleichbar mit der des Sojalecithins einzuschätzen.

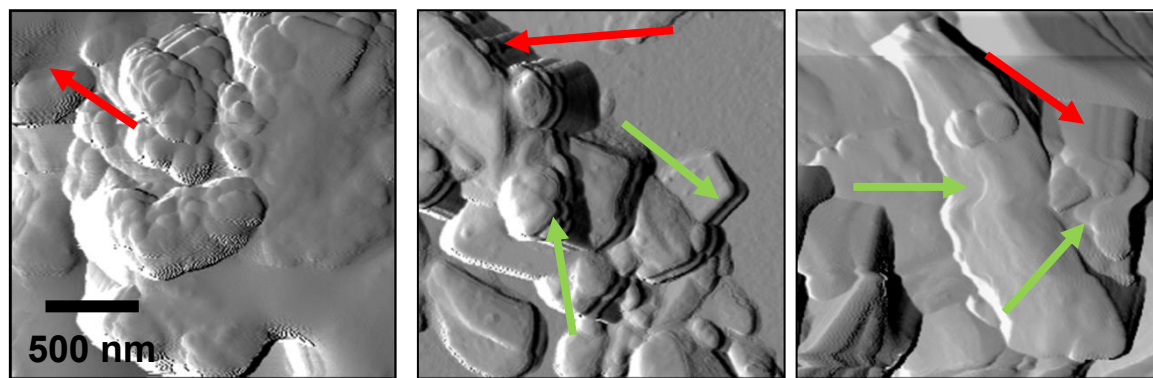


Abb. 3.21: Charakteristische AFM Oberflächentopographien von mittels Kugelmühle (\varnothing 1,5 cm) in Anwesenheit von Sonnenblumenlecithin zerkleinerten Saccharose, Erläuterung der Markierungen siehe Text

Anhand der Oberflächenstrukturen lässt sich auf eine mehr oder weniger starke Oberflächenbelegung der Partikel schließen, die aber nicht quantitativ ausgedrückt werden kann. Aus dieser Betrachtung der Topographiebilder ergibt sich jedoch eine Einschätzung der Belegungsstärke mit Emulgatoren (vgl. Abb. 3.22):

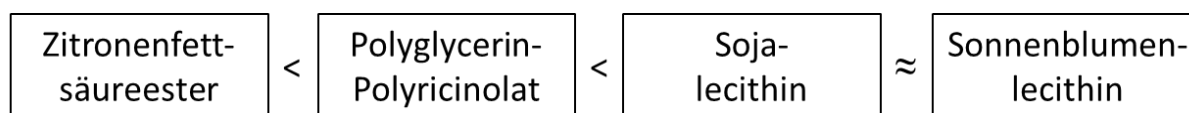


Abb. 3.22: Stärke der Oberflächenbelegung der Saccharosepartikel mit Emulgatoren, Zuordnung auf Grundlage der AFM-Topographiebilder

3.2.2.2 Bestimmung der Oberflächenadhäsivität der Saccharosepartikel mittels Rasterkraftmikroskopie

Des Weiteren wurde der Einfluss von unterschiedlichen Emulgatoren auf die adhäsiven Eigenschaften zwischen der Probenoberfläche und der AFM-Messspitze (Silizium, unpolar) untersucht. Wie bereits im Falle der unterschiedlichen Zerkleinerungsarten wird wiederum eine Korrelation zwischen Adhäsivität und Oberflächenstruktur erstellt. Auch hier wurde wieder die Vielzahl der Ergebnisse der Kraft-Karten zunächst auf Rohdatenbasis ausgewertet. Dazu wurde mit der AFM-Software das Histogramm jeder einzelnen Kraftkarte erstellt, in Bezug auf die Zerkleinerungsart und Reproduzierbarkeit vergleichend beurteilt und nach Häufigkeitsverteilungen sortiert. Es wurde zu ausgewählten Histogrammen das entsprechende Topographiebild dargestellt. So wird dem Kräftebereich ebenfalls eine repräsentative Oberflächentopographie zugeordnet.

Bei den Saccharosepartikeloberflächen nach Anwendung von PGPR wird ein Kräftebereich von 5 – 40 nN sehr häufig abgedeckt (vgl. Abb. 3.23). Dies lässt bei einem Vergleich mit den Histogrammen unbelegter Saccharosepartikel (vgl. z.B. Abb. 3.8) darauf schließen, dass im Falle der PGPR-Probe ebenfalls unbelegte Partikeloberflächen

vorzufinden sind. Da gerade im geringen Kräftebereich unter 20 nN eine größere Anzahl zu finden ist, sollten - wenn auch nur vereinzelt - stufenartige Strukturen auftreten. Diese sind im entsprechenden Topographiebild auch zu sehen (siehe z.B. roter Pfeil in Abb. 3.23). Jedoch treten neben unbelegten Arealen auch belegte Oberflächenbereiche auf. Diese können, nach einem Vergleich der Histogramme mit denen der unbelegten Partikeloberflächen, den Bereichen höherer Adhäsionskräfte (etwa 40-80 nN) zugeordnet werden.

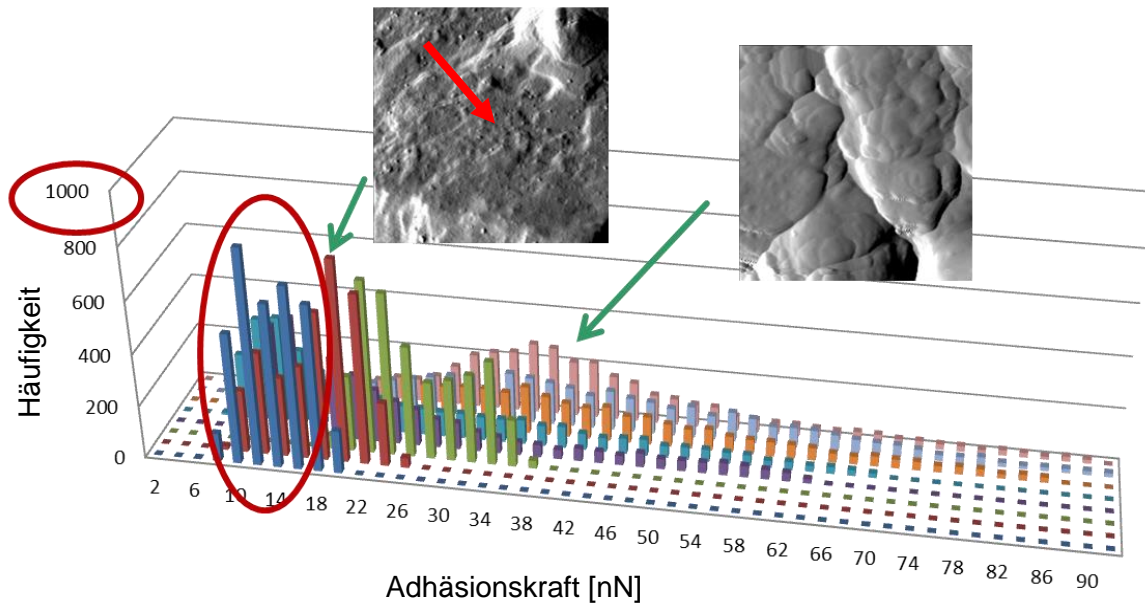


Abb. 3.23: Histogramme der Kraft-Karten von AFM-Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Polyglycerin-Polyricinolat belegten Saccharosepartikeln, Scangröße 2x2 µm

Für die Belegung mit den Zitronensäureestern gilt grundsätzlich das Gleiche wie für PGPR (vgl. Abb. 3.24). Der untere Kräftebereich ist hier jedoch weniger stark vertreten, der höhere Bereich dafür etwas stärker. Insgesamt wird ein Bereich von 5 – 100 nN abgedeckt. Dies lässt wieder darauf schließen, dass neben unbelegten Partikeloberflächen kleinerer Adhäsionskräfte auch belegte Bereiche höherer Adhäsivität vorhanden sind. Die entsprechenden Kräftebereiche erstrecken sich auf bis zu 100 nN. Diese Histogramme lassen demnach auf eine stärkere Belegung der Oberflächen im Vergleich zu PGPR schließen.

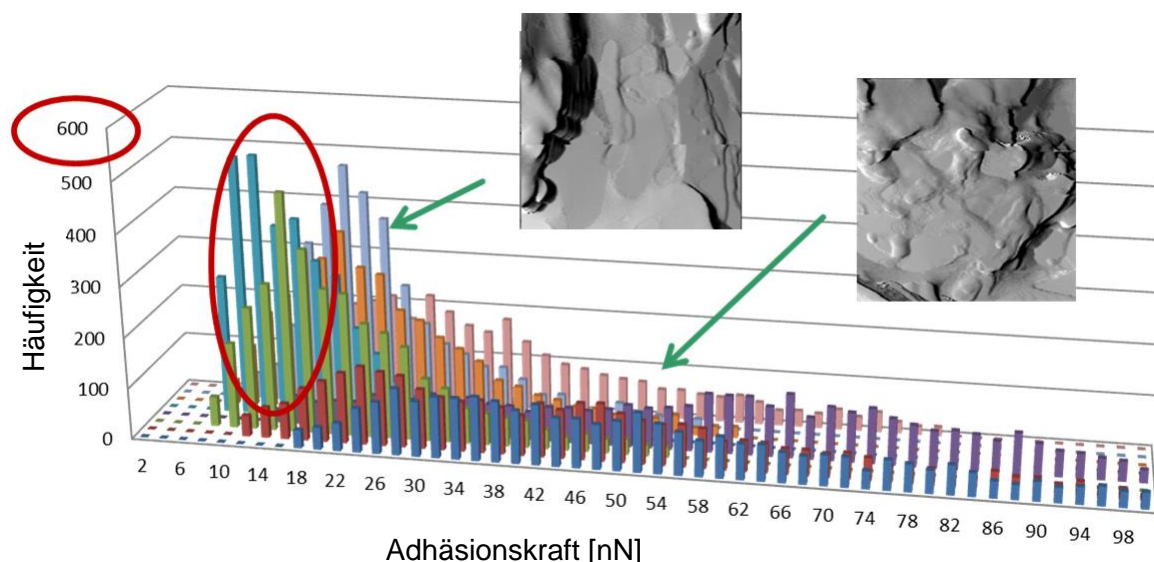


Abb. 3.24: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Zitronensäureestern belegten Saccharosepartikeln, Größe 2x2 μm

In Abb. 3.25 ist das Histogramm der Kraft-Karten von mit Sojalecithin belegten Partikeloberflächen gezeigt. Es ist ein im Vergleich zu den anderen Emulgatoren sehr breiter Kräftebereich vertreten, der in zwei wesentliche Bereiche unterteilt werden kann. Im unteren Bereich sind Kräfte von 10 - 40 nN vertreten, der obere Bereich erstreckt sich von 30 - 100 nN, in Einzelfällen auch darüber hinaus. Diese breite Kräfteverteilung mit unterschiedlichen Bereichen kann als Hinweis auf die einzelnen Phospholipidfraktionen und Fettsäurereste mit unterschiedlicher Adhäsivität zwischen der Spitze und der Probenoberfläche zurückgeführt werden. Insgesamt deutet dieses Histogramm auf eine starke Oberflächenbelegung der Partikel hin.

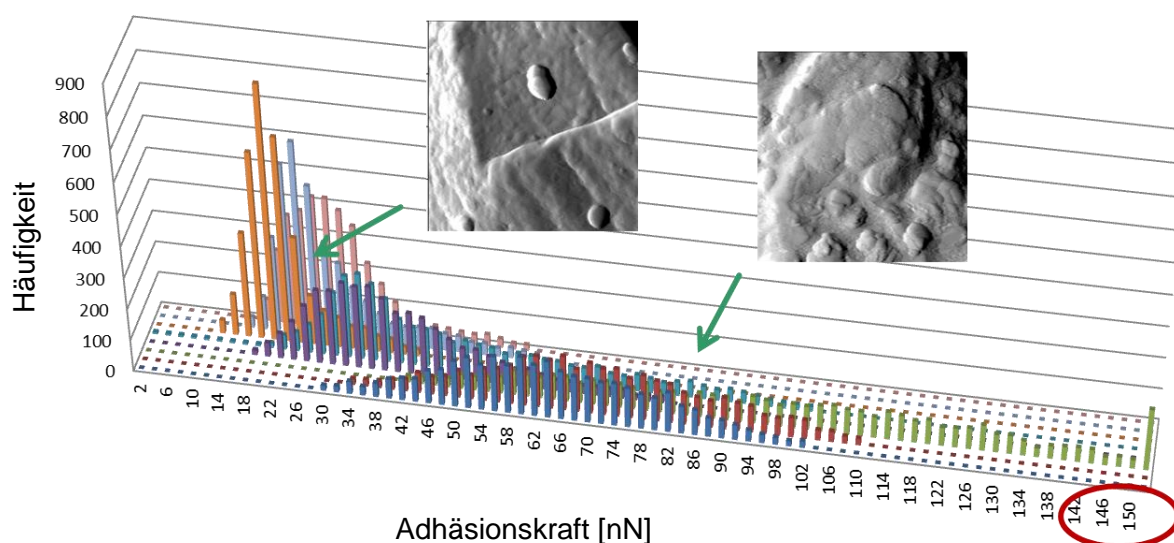


Abb. 3.25: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Sojalecithin belegten Saccharosepartikeln, Scangröße 2x2 μm

Neben Sojalecithin wird in der Schokoladenindustrie vermehrt mit Sonnenblumenlecithin gearbeitet. Wie auch beim Sojalecithin ist wieder eine relativ breite Kräfteverteilung (5 - 60 nN) zu finden, wobei größere Häufigkeiten im Bereich kleinerer Kräfte zwischen 5 und 25 nN vorhanden sind. Ob und wie weit hier die unterschiedliche Phospholipid- oder auch Fettsäurezusammensetzung im Vergleich zum Sojalecithin relevant ist, konnte bisher nicht im Detail geklärt werden (vgl. Tab. 1.1).

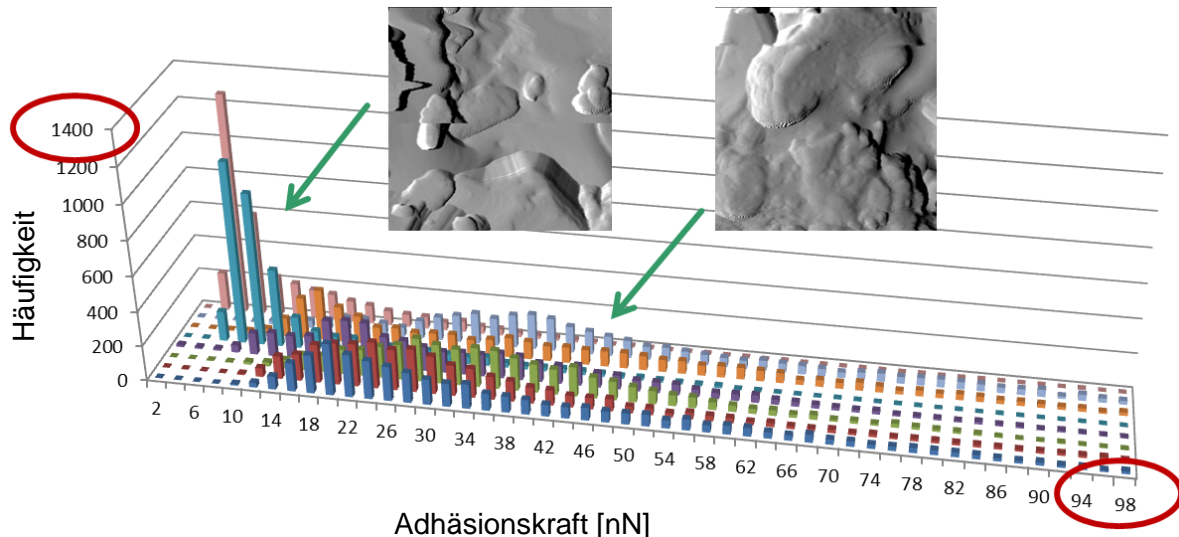


Abb. 3.26: Histogramme der Kraft-Karten von AFM Messungen an mit Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten, mit Sonnenblumenlecithin belegten Saccharosepartikeln, Scangröße 2x2 μm

Wie aus den dargestellten Abbildungen deutlich wird, hat sich das Kraftspektrum durch die Anlagerung von Emulgatoren deutlich erweitert. Es reicht nun bis ca. 100 nN, während es sich im Falle der unbelegten Saccharosepartikel nur bis etwa 50 nN erstreckte (vgl. z.B. Abb. 3.8 und Abb. 3.23). Wie bereits in Kap. 1.5.3 beschrieben und diskutiert, konnte der Einfluss von Oberflächentopographie und Spitzengeometrie bei diesen Messungen auf ein Minimum reduziert werden. Die Veränderung der Adhäsivität gegenüber den unbelegten Partikeloberflächen ist daher nahezu vollständig auf Anlagerung von Emulgatoren zurückzuführen.

Abschließend lässt sich aus den Ergebnissen der Adhäsivitätsmessungen ebenfalls eine relativ starke Oberflächenbelegung der Partikel ableiten. Somit ergibt sich analog Abb. 3.22 folgende Reihe in Bezug auf die Belegungsstärke mit Emulgatoren:

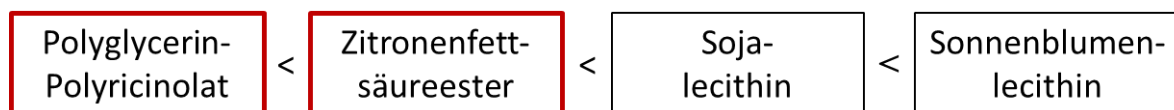


Abb. 3.27: Auf Grundlage der AFM-Adhäsivitätsmessungen abgeschätzte Ausdehnung der Oberflächenbelegung der Saccharosepartikel mit Emulgatoren

3.2.2.3 Detaillierte Betrachtung der Anlagerung von Phosphatidylcholin

Um den Anlagerungsprozess von Lecithin in den Suspensionen besser zu verstehen, wurde dieser anhand der Lecithinhauptkomponente Phosphatidylcholin näher untersucht. Dazu wurde wiederum ein Kandiskristall mit einem Hammer in flüssiger Kakaobutter zerkleinert, für die Rasterkraftmikroskopie präpariert und anschließend wieder mit flüssiger Kakaobutter (45 °C) überschichtet (vgl. Kap. 6.4.6.6). Dann erfolgte die Charakterisierung der Oberflächentopographie und -adhäsivität.

Bei der Auswertung der Karten ist zu beachten, dass diese Messungen nicht in einer Stickstoffatmosphäre, sondern direkt in der lipophilen Phase aus flüssiger Kakaobutter durchgeführt wurden. Es wurden zwar vergleichbare Cantilever verwendet, jedoch musste die Federkonstante an Stickstoffatmosphäre bestimmt werden. Dies war in der höher viskosen Kakaobutter nicht möglich. Durch die lipophile Umgebung ist des Weiteren eine herabgesetzte Adhäsivität zwischen der Partikeloberfläche und der Messspitze zu erwarten. Die Absolutwerte der Oberflächenadhäsivitäten in flüssiger Kakaobutter können somit nicht direkt mit denen der vorhergehenden Untersuchungen an Stickstoffatmosphäre verglichen werden.

Zunächst wurde die lokale Veränderung des Oberflächenzustandes vor und nach Anlagerung des PC in einem Bereich von 10 x 10 µm näher untersucht. Die Oberflächen-topographie sowie die Kraftkarten sind in Abb. 3.28 gezeigt.

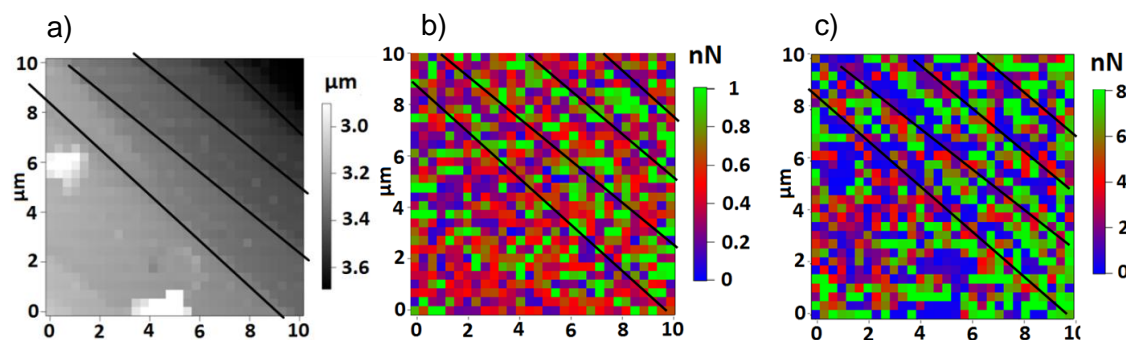


Abb. 3.28: Veränderung der Oberflächenadhäsivität durch Zugabe des Emulgators PC auf einer Saccharoseoberfläche ähnlich der in Abb. 3.4 a, die Stufen sind durch diagonale Linien verdeutlicht, a) Topographie, b) Karte der Adhäsivität vor Zugabe und c) nach Zugabe von PC (AFM)

Abb. 3.28 a zeigt zunächst die Topographie der Probenoberfläche. Die eingezeichneten schwarzen Linien verdeutlichen die bereits erwähnten Stufenstrukturen (vgl. Abb. 3.4 a). In Abb. 3.28 b ist der entsprechende Adhäsivitätszustand dieser Oberfläche zu sehen bevor ein Emulgator hinzugegeben wurde. Der Verlauf der Stufen (Abb. 3.28 a) ist durch schwarze Linien wiedergegeben, kann aber nicht mit der Kräfteverteilung auf dieser Oberfläche korreliert werden. Das Spektrum der Adhäsionskräfte der Karte reicht von 0 bis 1 nN. In Abb. 3.28 c ist der Oberflächenzustand nach der Anlagerung des PC an die

Saccharosepartikeloberflächen gezeigt. Auch hier ist wieder das Stufenmuster hervorgehoben. Allerdings ist nun ein Zusammenhang zum Farbmuster dieser Karte erkennbar und auch das Kräftespektrum hat sich vergrößert. Es reicht von 0 bis 8 nN. Beim Vergleich der Karten wird deutlich, dass sich die Änderungen der Adhäsionskraft eher auf die planen Bereiche der Oberfläche beziehen, während sich die Kräfte im Bereich der Stufen des Kristalls nicht bzw. nur kaum verändern. Eine Betrachtung der molekularen Ebene zeigt, warum es durchaus plausibel ist, dass sich der Emulgator bevorzugt auf den planen Bereichen und nicht an den Stufen anlagert. In Abb. 3.29 ist die räumliche Struktur von Saccharose im Kristallgefüge dargestellt. Sie zeigt eine Elementarzelle, die aus zwei Saccharosemolekülen besteht. Die Atome im Molekül sind durch Farben gekennzeichnet (hellgrau: Wasserstoff, rot: Sauerstoff, dunkelgrau: Kohlenstoff). Aus dieser Darstellung wird deutlich, dass die Oberfläche des Partikels in erster Linie durch die Sauerstoffatome des Moleküls gebildet wird.

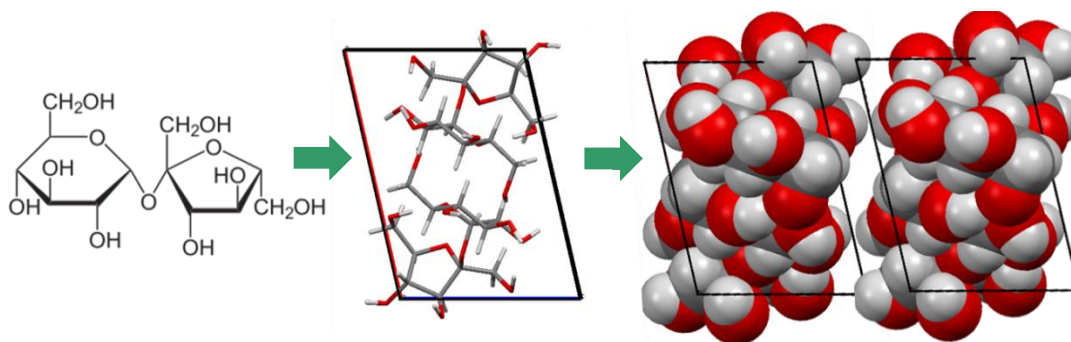


Abb. 3.29: Molekularer Aufbau von Saccharose, links: Strukturformel, Mitte: zwei in der Elementarzelle angeordnete Saccharosemoleküle, rechts: räumliche Ausdehnung der Atome im Ball-Modell

Aufgrund der freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome ist eine Wechselwirkung mit der positiv geladenen Kopfgruppe des PC vorteilhaft (vgl. Abb. 3.30 a). Aus einem anderen Blickwinkel auf die räumliche Darstellung des Saccharosemoleküls zeigt sich, dass sich an „Kanten“ eher die positiv polarisierten Kohlenstoff- und Wasserstoffatome befinden (vgl. Abb. 3.30 b). Die Wechselwirkung mit dieser positiv geladenen Kopfgruppe ist nicht sehr wahrscheinlich, sie ist als eher repulsiv einzustufen. Hinzu kommt, dass eine Anlagerung von PC im Bereich der Kanten aus sterischen Gründen erschwert sein wird. Aufgrund dieser beiden Aspekte können die in Abb. 3.28 gezeigten Ergebnisse als plausibel eingestuft werden.

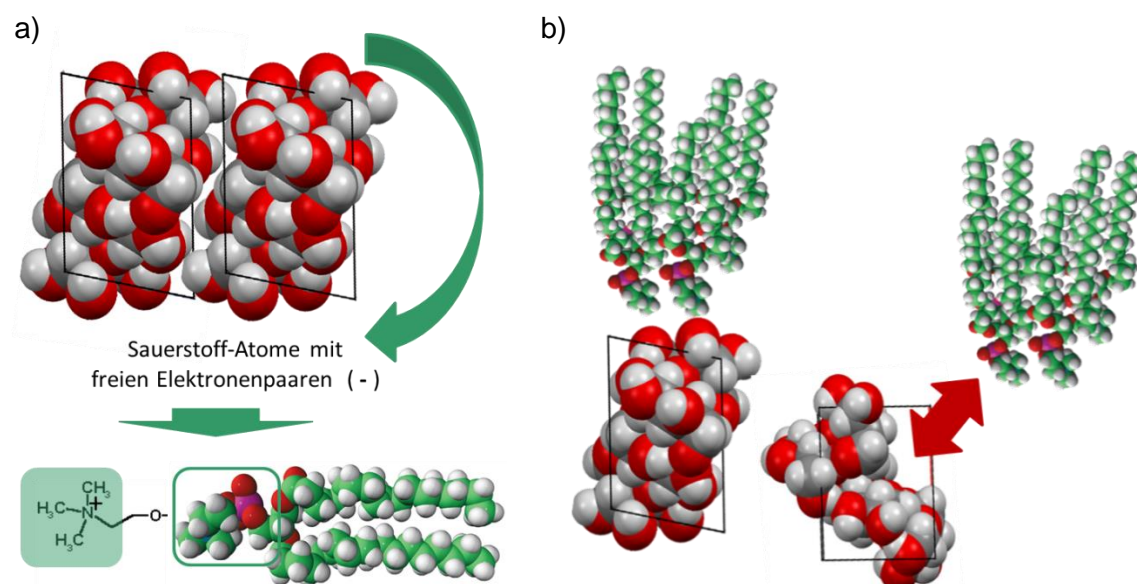


Abb. 3.30: a) Wechselwirkung der PC-Kopfgruppe mit der Oberfläche des Saccharosemoleküls, b) Vergleich der Wechselwirkungen an der Oberfläche mit der Wechselwirkung an einer Bruchkante, Ball-Modell erstellt mit Mercury 3.0 (CCDC, Cambridge, UK)², Struktur des Lecithinmoleküls freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Avanti Polar Lipids, Inc., Erläuterungen siehe Text

Des Weiteren wurde das molekulare Lipophilie-Profil der Saccharose zur Auswertung der oben dargestellten Ergebnisse in Betracht gezogen [89,90]. Es wurde festgestellt, dass eine räumliche Trennung stärker hydrophiler und deutlich hydrophober Regionen auf der Moleküloberfläche der Saccharose besteht. Der am stärksten hydrophobe Molekülteil wurde als die Rückseite des Fructoserestes identifiziert, die Glucoseeinheit ist dagegen ausgeprägt hydrophil. Diese Ergebnisse beziehen sich jedoch auf die Konformation des Moleküls in wässriger Lösung und können demnach nicht ohne weiteres auf die Gegebenheiten im Kristallgefüge, wie es bei den AFM Versuchen vorgelegen hat, übertragen werden.

3.2.2.4 Diffusionsgesteuerte Anlagerungskinetik von Phosphatidylcholin

In weiteren AFM-Versuchen wird untersucht, in welchem Zeitrahmen Phosphatidylcholin an unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit gebrochene Saccharosepartikel und somit an aktivierte Oberflächen adsorbiert. Dazu wurde zunächst ermittelt, ob bei einer dafür notwendigen Langzeitmessung eine Abnutzung der Messspitze die Ergebnisse verfälscht. Für diese Versuche wurde eine Reihe von Kraftkarten auf einer frisch gebrochenen Saccharoseoberfläche sowie einer Glimmeroberfläche jeweils unter Stickstoff aufgenommen. Die Karten wurden über Histogramme ausgewertet. Das Kraftspektrum bleibt auf ein und derselben Oberfläche über einen Zeitraum von 2 h (siehe Abb. 8.4 und

² Die Kristalldaten nach [99] zur Darstellung in Mercury 3.0 wurden heruntergeladen von der Seite <http://www.ccp14.ac.uk/ccp/ccp14/ftp-mirror/platon-spek/pub/special/sucrose.cif>, zuletzt aufgerufen am 24.11.2014

Abb. 8.5 im Anhang auf Seite 132) stabil. Eine Abnutzung der Spitze durch den Scanvorgang und eine dadurch auftretende Verfälschung der Messergebnisse kann demnach unter den gewählten Versuchsbedingungen auch über einen längeren Zeitraum ausgeschlossen werden. Zudem sind die in lipophiler Phase auftretenden Kräfte zwischen Spitze und Probenoberfläche nochmals deutlich geringer, sodass der Einfluss auf die Spitzengeometrie während der Messung vernachlässigbar gering ist.

In einem weiteren Versuch konnte nun bestimmt werden, wie sich die Oberflächenadhäsivität des gebrochenen Saccharosekristalls durch die Anlagerung von Emulgatormolekülen mit der Zeit verändert (vgl. Kap. 6.4.6.6). Dazu wurden zunächst einige Kraftkarten auf ein und derselben Stelle eines Saccharosekristalls aufgenommen. Dann wurde Phosphatidylcholin in die Messzelle injiziert. Die Verteilung des PC erfolgte dabei ausschließlich diffusionskontrolliert. Eine aktive Durchmischung war aufgrund des Versuchsaufbaus und des Messprinzips der AFM nicht möglich. Anschließend wurden wiederum auf derselben Stelle Kraft-Karten gemessen.

Abb. 3.31 zeigt die zeitabhängige Veränderung der Verteilung der Oberflächenadhäsivität auf einem Saccharosepartikel. Die Messungen wurden allesamt auf ein und demselben Oberflächenbereich einer Größe von $10 \times 10 \mu\text{m}$ durchgeführt. Etwa zwei Stunden nach Injektion des PC in die AFM-Messzelle treten erste Veränderungen in der Kräfteverteilung auf. Die Häufigkeiten im Bereich der Kräfte unterhalb von 2-3 nN nehmen ab, das Spektrum wird zunächst auf einen Bereich bis ca. 8 nN erweitert. Im Laufe der Zeit verbreitern sich die Verteilungen weiter, bis sich nach etwa 10-11 h ein Gleichgewicht eingestellt hat. Dieses Gleichgewicht ist durch einen kontinuierlichen Adsorptions- und Desorptionsprozess des PC-Moleküls gekennzeichnet: die in Abb. 3.31 dargestellte Verteilung der Adhäsionskräfte bleibt unverändert, jedoch können lokale Veränderungen der Adhäsivität auf der Saccharosepartikeloberfläche beobachtet werden (vgl. Kraftkarten in Abb. 3.32)

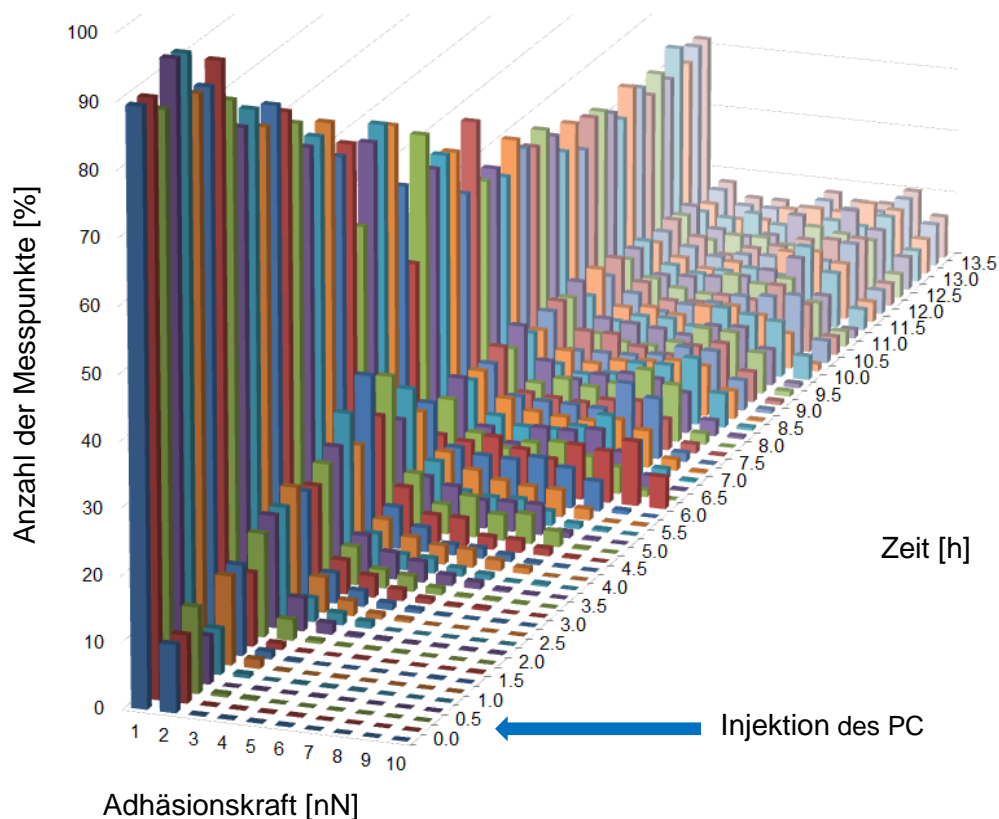


Abb. 3.31: Zeitabhängige Veränderung der Verteilung der Oberflächenadhäsivität (AFM) einer Saccharosekristalloberfläche nach Injektion einer Lösung aus Phosphatidylcholin und Kakaobutter, Zeitpunkt der Injektion markiert durch Pfeil

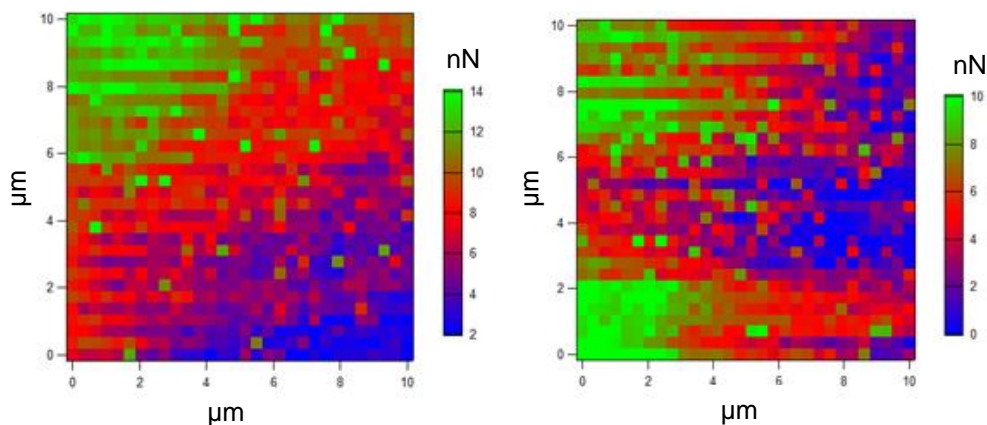


Abb. 3.32: zwei AFM-Kraftkarten nach einer Zeit von 12 h im Gleichgewichtszustand aufgenommen, zeitlicher Abstand zwischen den beiden Messungen: ca. 15 min, Erläuterungen siehe Text

Es ist sehr wahrscheinlich, dass diese gleichzeitigen Adsorptions- und Desorptionsprozesse auch beim Conchiervorgang flüssiger Schokoladenmassen stattfinden. Jedoch ist hier durch die aktive Durchmischung der Suspension eine stark verkürzte Zeit bis zur Einstellung des Gleichgewichtszustandes zu erwarten. Um diesen Gleichgewichtszustand der Anlagerung von Emulgatoren an die Partikeloberflächen auch quantitativ zu erfassen, ist eine entsprechende chemische Analytik notwendig.

3.2.2.5 Grenzflächenbelegung von zerkleinerten Saccharosepartikeln mit Emulgatormolekülen

Die Grenzflächenbelegung der Partikel mit Emulgatoren kann aus der Differenz der Emulgatorkonzentrationen vor Zugabe der Saccharose und in der abzentrifugierten Kakaobutterphase der Modellsuspensionen berechnet werden. Hierzu ist die quantitative Bestimmung der Emulgatorgehalte notwendig. Wie nun nachfolgend beschrieben, sind bei dieser quantitativen Analytik einige grundlegende Aspekte zu berücksichtigen.

Bestimmung der Emulgatorgehalte

Zunächst einmal birgt die Matrix aus Kakaobutter einige Schwierigkeiten bei der quantitativen Bestimmung der Emulgatorgehalte. Sowohl die Phospholipide als auch die Zitronensäureester beinhalten die gleichen Fettsäurereste, wie sie auch in den Glyceriden der Kakaobutter vorzufinden sind. Einzig die polare Kopfgruppe der Emulgatormoleküle bietet einen Ansatzpunkt für die Analytik.

Dazu müssen die Emulgatoren zunächst von der Kakaobuttermatrix getrennt werden. Jedoch sind Emulgatoren amphiphile Moleküle, die sich sowohl in polaren als auch in unpolaren Medien vergleichsweise gut einbringen lassen. Um die möglichst vollständige Extraktion aus der Matrix zu gewährleisten und Verluste des Analyten weitestgehend zu vermeiden, ist die Probenvorbereitung von besonderer Bedeutung. Sie spielt gerade bei den sehr geringen Analytkonzentrationen eine wesentliche Rolle. Die zu erwartenden Gehalte betragen weit weniger als die eingesetzten 0,4 g des jeweiligen Emulgators pro 100 g Kakaobutter. Unter der Annahme, dass beispielsweise etwa 90 % des eingesetzten Emulgators adsorbieren, liegen in der Kakaobutter lediglich 40 mg Emulgator / 100g vor. Eine möglichst geringe Nachweis- und Bestimmungsgrenze sowie eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sind daher unabdingbar. Dies kann in den meisten Fällen durch eine Standardadditionsmethode nach vorhergehender Anreicherung des Analyten durch z.B. eine Festphasenextraktion gewährleistet werden.

Zur quantitativen Bestimmung der **Phospholipide** wurden am DIL e.V. bereits umfangreiche Untersuchungen angestellt. Die Beschreibung und Bewertung der Strategie, Diskussion von Schwierigkeiten und möglicher Fehlerquellen sowie deren Überwindung bzw. Kontrolle wurden bereits von Buxmann beschrieben und veröffentlicht [91]. Die quantitative Bestimmung der Phospholipide in den Modellsuspensionen wurde entsprechend dieser Arbeiten analog Kap. 6.5.1 durchgeführt. Die Bestimmungsgrenze beträgt 0,001 g/100g, die Nachweisgrenze 0,0004 g/100g.

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der **Zitronensäureester mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren** (ZSE) war bisher nicht zugänglich und musste daher entwickelt werden. Dies lag im Verantwortungsbereich von Herr Dr. Juadjur. Wie bereits eingangs beschrieben, wurde zunächst eine Abtrennung der ZSE von der Kakaobutter vorgenommen. Die Proben wurden gemäß Kap. 6.5.3 zur Festphasenextraktion auf SPE-Kartuschen gegeben und mit Hexan nachgespült (Eluat A). Zur Abtrennung der Kakaobutterphase hat sich ein Gemisch aus Hexan und Essigsäureethylester bewährt (Eluat B). Die Zitronensäureester wurden dann mit einem Gemisch aus Chloroform und Methanol eluiert (Eluat C), anschließend wurde mit reinem Methanol nachgewaschen (Eluat D). Zur Kontrolle der Verteilung in den Fraktionen wurde im Rahmen der Methodenentwicklung eine Dünnschichtchromatographie (DC) durchgeführt (vgl. Kap. 6.5.3 sowie Kap. 8.5 im Anhang auf S.141). Eluat A und B enthielten größere Mengen Kakaobutter, wohingegen die Zitronensäureester in Eluat C gut angereichert wurden.

Die Quantifizierung der ZSE erfolgte über die enzymatische Detektion der Zitronensäure durch ein kommerziell erhältliches Testkit. Dazu mussten die Ester zunächst mit Kalilauge verseift werden, eine entsprechende Beschreibung war im Testkit angegeben (vgl. auch Kap. 6.5.3). Verluste durch die Probenaufarbeitung wurden über die Standardadditionsmethode ausgeglichen. Zur Erstellung der Kalibriergeraden wurde derselbe ZSE eingesetzt, der auch zur Herstellung der Modellsuspensionen verwendet wurde. So konnten gute Ergebnisse im relevanten Konzentrationsbereich gewährleistet werden. Zur Überprüfung des Testkits wurde bei jeder Bestimmungsreihe die mitgelieferte Testkontrolllösung parallel untersucht. Die prozentuale Abweichung betrug 2,5 %. Wiederfindungsversuche von ZSE in Kakaobutter zeigten ein Ergebnis von 102 %.

Eine ähnlich aufwendige Methode war für die quantitative Bestimmung des **Polyglycerin-Polyricinolates** (PGPR) erforderlich. Zunächst einmal bestehen die gleichen Schwierigkeiten wie bei der Bestimmung der Phospholipide und der ZSE (siehe oben). Daher muss auch in diesen Fällen eine vorherige Abtrennung und Anreicherung des Analyten aus der Kakaobutter erfolgen. Anschließend kann eine Quantifizierung stattfinden. Dies ist beispielsweise über die Bildung von Ricinolsäuremethylestern und anschließender gaschromatographischer Bestimmung möglich. Allerdings ist die Bildung des Methylricinolates unter Umständen nicht reproduzierbar, da z.B. durch die Doppelbindung in β -Stellung zur Hydroxygruppe der Ricinolsäure eine Eliminierung von Wasser oder der anhängenden Ricinolsäure begünstigt sein könnte.

Aufgrund der geringen Probenanzahl musste auf eine entsprechende Methodenentwicklung am DIL verzichtet werden. Zur Bestimmung von PGPR ist jedoch am Institut für Qualitätsförderung in der Süßwarenwirtschaft, IQ.Köln, bereits eine geeignete Methode

etabliert. Die PGPR-Gehalte der Modellsuspensionen wurden dort über eine hochauflösende Gaschromatographie über den Ricinolsäuregehalt bestimmt. Unter Annahme, dass das eingesetzte PGPR einen handelsüblichen Gehalt an Ricinolsäure von ca. 80 % aufweist, wurde dann der Gehalt an PGPR errechnet. Die Bestimmungsgrenze wurde vom durchführenden Labor mit 0,03 g/100g, die Nachweisgrenze mit 0,01 % PGPR angegeben (vgl. Kap. 6.5.2). Um die Richtigkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurde eine Kontrollprobe mit bekanntem PGPR-Gehalt in Kakaobutter mitgeschickt. Für eine Einwaage von 0,507 g PGPR in Kakaobutter wurde ein Wert von 0,60 g PGPR /100 g ermittelt. Dies entspricht einer Abweichung von etwa 18 %.

Bestimmung der Grenzflächenbelegung

Auf Grundlage der beschriebenen Methoden zur quantitativen Bestimmung des Emulgatorgehaltes (vgl. auch Kap. 6.5) und den aus der Partikelgrößenverteilung errechneten spezifischen Oberflächen (vgl. Abb. 3.3) wurde nun die Grenzflächenbelegung der Saccharosepartikel mit Emulgatoren berechnet. Dazu wurde der Anteil an Emulgator bestimmt, der nach dem Conchieren der Suspension noch in der lipophilen Phase nachweisbar war. Die Differenz zu der zugegebenen Emulgatormenge wurde dann als adsorbierter Gehalt an Emulgator bezogen auf die Partikeloberfläche berechnet. Die Ergebnisse sind in Tab. 3.2 angegeben.

Allerdings wird abgetrennte Kakaobutterphase zur Berechnung des Emulgatorgehaltes herangezogen, sodass hier auch der immobilisierte Fettanteil der Proben berücksichtigt werden muss. Diesbezüglich wird eine Gleichverteilung der Konzentrationen im immobilisierten sowie abzentrifugierten Fettanteil angenommen. Für diese Annahme spricht die lange Kontaktzeit zwischen Kakaobutter, Emulgator und Saccharose bereits vor Beginn dieser Analyse. Somit ergibt sich ein Wert, der die realen Konzentrationsverhältnisse in einer hohen Näherung relativ gut widerspiegelt. Diese Annahme betrifft zudem sämtliche Proben, sodass die angegebenen Werte gut miteinander vergleichbar sind.

Tab. 3.2: Grenzflächenbelegung der mit Emulgator belegten Partikeloberflächen, die Standardabweichung ist angegeben nach Kap. 6.5

Probenbezeichnung	Emulgatormenge in mg/m² Saccharoseoberfläche	Anteil an adsorbiertem Emulgator bezogen auf die eingesetzte Gesamtmenge [%]
PGPR	0,2 ± 0,1	7,1
Zitronensäureester	2,2 ± 0,3	85,8
Sonnenblumenlecithin	2,3 ± 0,1	89,0
Sojalecithin	2,8 ± 0,1	98,1

Es zeigte sich, dass die Belegung mit Sojalecithin von $2,8 \text{ mg/m}^2$ etwas stärker ist als mit Sonnenblumenlecithin ($2,3 \text{ mg/m}^2$). Dies gibt einen Hinweis darauf, dass das Sojalecithin besser an die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel nach Zerkleinerung angepasst ist als das Sonnenblumenlecithin. Bei der Belegung der Saccharosepartikel mit Zitronensäureestern wurde eine Belegung von $2,2 \text{ mg/m}^2$ berechnet. Im Falle der Suspension, der PGPR zugesetzt wurde, konnten jedoch nur $0,2 \text{ mg/m}^2$ nachgewiesen werden. Auch bereits bei Auswertung der AFM-Aufnahmen zeigten diese Partikel mit tropfenförmigen Auflagerungen eine deutlich von den Lecithinen und den Zitronensäureestern abweichende Oberflächentopographie (vgl. Abb. 3.19).

Des Weiteren ist ersichtlich, dass der Anteil an adsorbiertem Emulgator bezogen auf die zur Herstellung der Modellsuspensionen eingesetzte Menge stark variiert (vgl. ebenfalls Tab. 3.2). Wie die Ergebnisse der Grenzflächenbelegung bereits zeigen, werden die Lecithine am stärksten adsorbiert. Im Falle des Sonnenblumenlecithins adsorbierten 89 % bezogen auf die eingesetzte Lecithinmenge, beim Sojalecithin sind es mit ca. 98 % deutlich mehr. Für die Zitronensäureester liegt dieser Wert bei ca. 86 %, vom PGPR werden nur ca. 7 % der eingesetzten Menge an den Partikeloberflächen wiedergefunden.

Um jedoch einen Eindruck von der molekularen Größenordnung der Anlagerung zu erhalten, ist ein Vergleich der Anzahl angelagerter Moleküle (in z.B. $\mu\text{mol/m}^2$) aussagekräftiger als ein Vergleich der Masse pro Fläche. Dazu wird das mittlere Molekulargewicht der Emulgatormoleküle benötigt. Im Falle der Lecithine ist dies von ihrer Phospholipidzusammensetzung abhängig, welche analog Kap. 6.5.1 bestimmt wurde. Auf dieser Grundlage errechnen sich die mittleren Molekulargewichte der einzelnen PL-Fractionen für das Sojalecithin zu 769 g/mol , für die PL-Fractionen des Sonnenblumenlecithins ergibt sich ein Wert von 734 g/mol . Die mittlere Molmasse des hochverzweigten und komplexen PGPR-Moleküls wurde bereits in der Literatur mit ca. $1200\text{-}2000 \text{ g/mol}$ angegeben [28,29].

Für die Zitronensäureester kann jedoch eine mittlere Molmasse nicht ohne weiteres angegeben werden. Wie bereits erläutert (vgl. Kap. 1.2) können am Glycerol-Grundgerüst ein oder zwei Fettsäurereste sowie ein oder zwei Moleküle Zitronensäure vorkommen. Des Weiteren ist zu beachten, dass die dreibasige Zitronensäure ebenfalls mit mehreren Glyceriden sowie als Hydroxyfettsäure auch mit Fettsäuren selbst verestert vorliegen kann. Unter der Annahme, dass ein Glycerin im Mittel 1,5 Fettsäuren sowie ein Zitronensäuremolekül enthält, ergibt sich die mittlere Molmasse zu ca. 748 g/mol . Durch oben angesprochene Kondensationsreaktionen kann sich diese Molmasse jedoch deutlich erhöhen, sodass die mittlere Molmasse des komplexen technischen Gemisches kaum abzuschätzen ist.

Weiterhin ist zu beachten, dass es sich bei den eingesetzten Emulgatoren nicht um definierte Substanzen handelt, sondern um Gemische. Die unterschiedlichen Komponenten weisen teils große strukturelle Unterschiede auf. So kann eine nur leicht abweichende Zusammensetzung und somit auch Abweichung in der Molmasse bereits Auswirkungen auf das Verhalten als grenzflächenaktive Substanz hervorrufen (vgl. Kap. 1.2). Die Auswahl der Emulgatoren erfolgte in Anlehnung an die Schokoladenindustrie. Somit können die verwendeten technischen Produkte als repräsentativ für die relevanten Strukturen angesehen werden.

Auf Grundlage dieser Überlegungen kann eine gewisse Kategorisierung der Emulgatoren erfolgen. Da die Phospholipide der beiden Lecithine im Mittel etwa gleich groß sind, werden bei gleicher Affinität zur Saccharoseoberfläche auch etwa gleich viele Moleküle pro m^2 angelagert. Im Gegensatz dazu werden wesentlich weniger der deutlich größeren PGPR-Moleküle benötigt, um eine Oberfläche von gleicher Größe zu belegen. Dadurch ergibt sich zwar eine unter Umständen vergleichbare Masse auf der Oberfläche, aber in jedem Fall eine geringere Anzahl an Molekülen. Diese Aspekte können aus genannten Gründen für die Zitronensäureester nicht konkretisiert werden. Jedoch ist es sehr wahrscheinlich, dass die Affinität, die Molekülgröße und somit auch die Anzahl der Zitronensäureestermoleküle auf der Oberfläche zwischen der der Phospholipide und der des PGPR liegen. Die in Tab. 3.2 aufgelisteten Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit diesen Überlegungen.

Wie bereits aus Tab. 3.2 ersichtlich wurde, findet die Adsorption der PL-Fraktionen des Sojalecithins mit 98 % annähernd vollständig statt. Für die Phospholipide des Sonnenblumenlecithins zeigte sich mit 89 % eine geringere Adsorption. Um weitere Erkenntnisse zu erhalten, wurde daher die Verteilung der Phospholipidfraktionen im adsorbierten Lecithin näher untersucht. Abb. 3.33 zeigt eine Abschätzung, in welchem Maße die einzelnen Phospholipidfraktionen beider Lecithine an die Partikeloberflächen adsorbiert wurden.

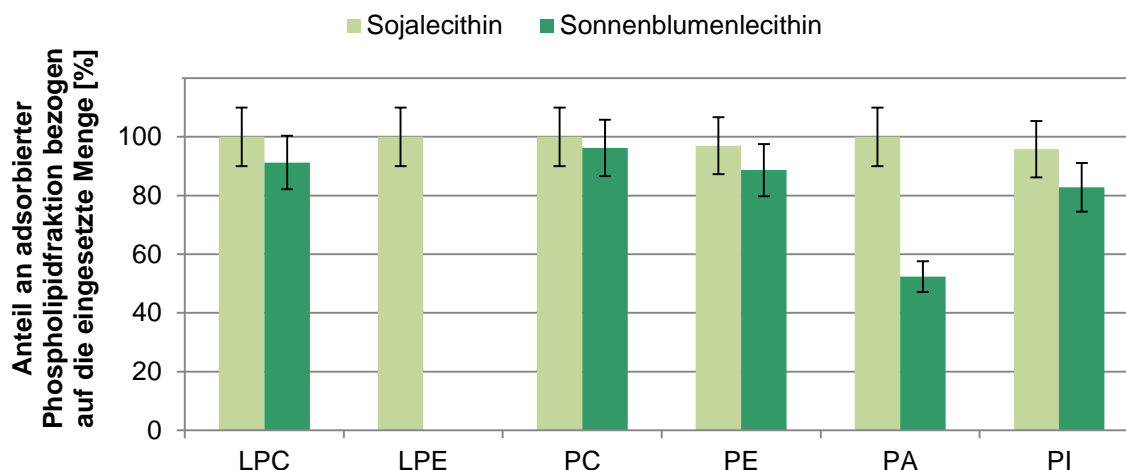


Abb. 3.33: Prozentuale Verteilung der adsorbierten Anteile der jeweiligen Phospholipidfraktion bezogen auf die eingesetzte Menge des entsprechenden Lecithins

Es wird ersichtlich, dass die geringere Adsorption des Sonnenblumenlecithins insbesondere auf die verminderte Adsorption von PA, aber auch von PE und PI zurückzuführen ist. Eine Erklärung für diese Beobachtung kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt jedoch nicht gegeben werden. Bei Auswertung dieser Daten ist allerdings zu berücksichtigen, dass der Anteil an PA im Sonnenblumenlecithin mit 1,5 % zudem deutlich geringer ist als im Sojalecithin mit 4 % (vgl. Tab. 1.1). Außerdem ist zu berücksichtigen, dass auch die Fettsäureverteilung der Phospholipide einen Einfluss auf die Anlagerung an die Saccharoseoberflächen haben kann (z.B. sterische Gründe durch die Anzahl an cis-Doppelbindungen). Ebenso kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob diese Unterschiede einen Einfluss auf die Werte für die Fettimmobilisierung und die Fließeigenschaften haben. Die Ergebnisse aus Abb. 3.33 lassen jedoch vermuten, dass an den Partikeloberflächen eine andere Phospholipidverteilung vorherrscht als im Sonnenblumenlecithin. Diese Beobachtung weist auf unterschiedliche Synergieeffekte bei der Adsorption in Abhängigkeit von der Phospholipidverteilung hin.

3.2.2.6 Abschätzung der Schichtdicke

Zur Bestimmung der Dicke der Emulgatorschicht wurden Kraft-Abstands-Kurven und aus ihnen erstellte Karten herangezogen (vgl. Kap. 6.4.4). Anhand der Eindringtiefe der Spitze auf einer mit Emulgator belegten Oberfläche war eine vergleichende Bestimmung der Schichtdicken möglich [62].

Die Eindringtiefe ergibt sich aus der Differenz der Kraft-Abstands-Kurven für Annäherung und Rückzug der Spitze, wenn sich diese in Kontakt mit der Oberfläche befindet (vgl. Bereich oberhalb der gestrichelten Linie sowie roter Doppelpfeil in Abb. 3.34 links). Dies wird beim Vergleich zwischen einer unbelegten und einer mit Emulgator belegten

Partikeloberfläche deutlich. Bei gleicher Position der Spitze (X-Achse als Abstand in nm) treten zwei unterschiedliche Werte für die Cantileverauslenkung auf (Y-Achse umgerechnet als Kraft in nN, vgl. gepunktete Linie in Abb. 3.34 links). Der Cantilever ist also im Falle einer mit Emulgator belegten Partikeloberfläche beim Rückweg (blaue Linie) weiter eingedrückt als beim Hinweg (rote Linie). Daraus ergibt sich eine Differenz von z.B. 27 nm (roter Doppelpfeil in Abb. 3.34 links), welche ein Maß für die Schichtdicke ist. Diese Differenz ist bei einer unbelegten Oberfläche praktisch nicht zu finden, sie liegt lediglich im Bereich von 1-2 nm (vgl. Abb. 3.34 rechts).

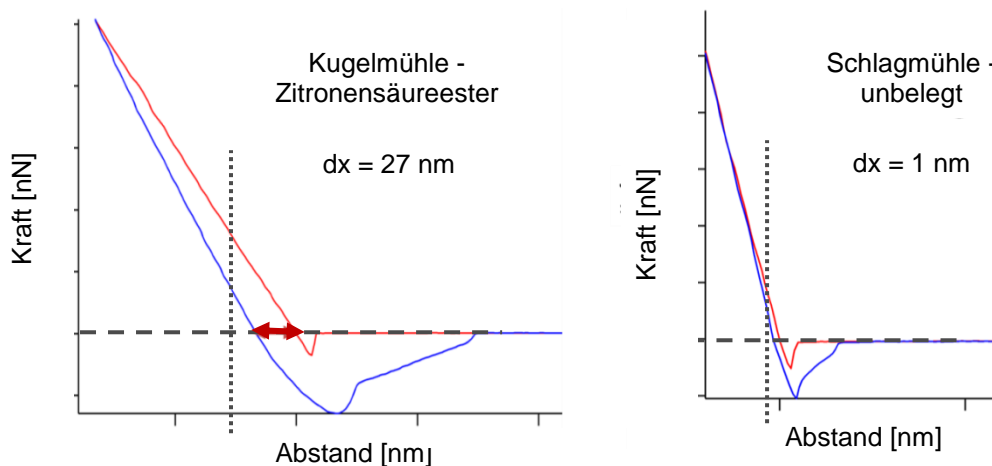


Abb. 3.34: Kraft-Abstands-Kurven aus einer AFM-Kraft-Karte auf einer mit Zitronensäureestern belegten Partikeloberfläche (links) sowie auf einer unbelegten Partikeloberfläche (rechts)

Für eine vergleichende Auswertung ist es zwingend notwendig, dass die maximale Aufdrückkraft der Spitze auf die Oberfläche bei jeder Messung konstant gehalten wird. Wie bereits in Kap. 1.5.3 eingehend beschrieben, wird die Spitzengeometrie durch die gewählten Messparameter nicht verändert. So ist eine Beeinflussung der Messung durch eine veränderte Kontaktgeometrie der Spitze weitestgehend ausgeschlossen. Weiterhin ist zu beachten, dass ein linearer Kontaktbereich bestehen muss (vgl. Abb. 3.34, oberhalb der gestrichelten Linie). Ein linearer Bereich zeigt, dass bis hinunter auf die Saccharoseoberfläche und durch die Emulgatorschicht hindurch gemessen wurde. Die gesamte Dicke der Emulgatorschicht wurde durchdrungen und somit vollständig erfasst. Es bestehen jedoch im Bereich unterhalb der gestrichelten Linie Abweichungen in der Linearität (vgl. insbesondere Abb. 3.34 links). Dies ist der Bereich, in dem z.B. die Emulgatorschicht in Wechselwirkung mit der Spitze tritt, er wird als Adhäsivität ausgewertet (vgl. auch Abb. 1.20).

Zur Bestimmung der Schichtdicke werden die oben genannten Kraftkarten aber nun hinsichtlich der plastischen Deformation erneut ausgewertet, wodurch eine analoge bildliche Darstellung erhalten wird. Zur Mittelwertbildung werden nur die Oberflächenbereiche herangezogen, die auch tatsächlich mit Emulgator belegt sind (vgl. Kap. 6.4.8).

Durch die Auswertung der Kraftkarten im Hinblick auf die plastische Deformation ergeben sich die in Tab. 3.3 aufgelisteten Schichtdicken.

Tab. 3.3: Schichtdicken der Emulgatorbelegung von Saccharosepartikeloberflächen mit Standardabweichung (n = max. 10800 aus insgesamt 3 Karten je Probe)

Emulgator	Mittelwert [nm]	
PGPR	52	± 24
Sonnenblumenlecithin	38	± 6
Sojalecithin	34	± 4
Zitronensäureester	43	± 7

Unter Berücksichtigung der Standardabweichung sind die Schichtdicken der Lecithin- und der Zitronensäureesterproben gleich. Die PGPR-Probe nimmt wiederum eine Sonderstellung ein. Mit 52 nm ist die aufgelagerte Schicht deutlich stärker als die Schicht der Lecithin- oder der Zitronensäureesterproben. Im Falle des PGPR konnte neben der großen Schichtdicke bereits eine vergleichsweise geringe Grenzflächenbelegung nachgewiesen werden (vgl. Tab. 3.2). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Verhältnisse bei der Adsorption und die Eigenschaften der an den Partikeln adsorbierten Grenzschicht bei der Anwendung von PGPR in den Modellsuspensionen grundlegend verschieden sind. Unter Berücksichtigung dieser Aspekte wurden im Folgenden die Untersuchungen zur Fettimmobilisierung und den Fließeigenschaften der Modellsuspensionen ausgewertet. Mit diesen Ergebnissen sollen weitere Erkenntnisse insbesondere über die Wirkungsweise von PGPR erhalten werden.

3.2.2.7 Fettimmobilisierung an den Saccharosepartikeln

Wie bereits im Rahmen der Untersuchungen bezüglich unterschiedlicher Zerkleinerungsarten, wird auch bei den Modellsuspensionen mit Emulgatorzusatz der Anteil an Kakao-butter bestimmt, der sich mittels Zentrifugation abtrennen lässt. Bei gleicher Art der Zerkleinerung und daher einheitlichen Partikelgrößenverteilungen sowie spezifischen Oberflächen der Saccharosepartikel (vgl. Abb. 3.35) hängt der Anteil an immobilisiertem Fett nun im Wesentlichen von den durch die Emulgatorbelegung veränderten Oberflächeneigenschaften der Partikel ab.

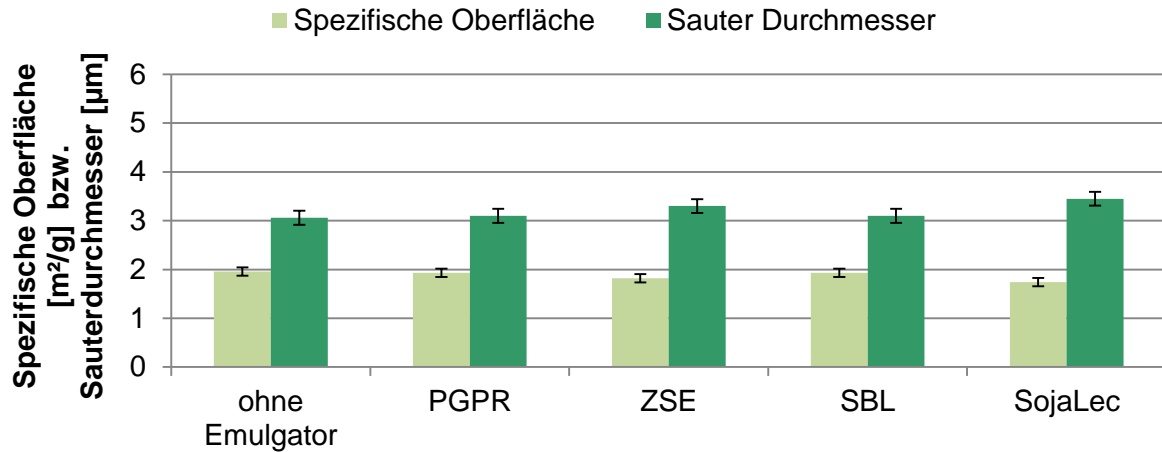


Abb. 3.35: Sauterdurchmesser und spezifische Oberfläche der Saccharosepartikel nach der Zerkleinerung und Adsorption von Emulgatoren

Wie aus Abb. 3.36 ersichtlich, sind die Anteile an immobilisiertem Fett an den Partikeln aus den Suspensionen mit Emulgatorzusatz tendenziell geringer (zur Diskussion von Messfehlern vgl. auch Kap. 3.1.1.4). Nur die Verwendung von Sonnenblumenlecithin zeigt einen zur unbelegten Partikeloberfläche vergleichbaren Wert. Die Anwendung von Zitronensäureestern bewirkt die größte Fettfreisetzung und resultiert somit im geringsten Anteil an immobilisiertem Fett an den Saccharosepartikeln. Der Emulgator ist diesbezüglich als sehr wirksam einzustufen.



Abb. 3.36: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett der Saccharosepartikel aus den Suspensionen mit Emulgatorzusatz nach Kugelmühlengerkleinerung der Saccharose (Kugel-Ø 1,5 cm)

Die Anwendung von Sonnenblumenlecithin bewirkt keine erhöhte Fettfreisetzung im Vergleich zur Probe ohne Emulgator. Das Sojalecithin allerdings zeigte eine deutliche Fettfreisetzung, was wiederum darauf hinweist, dass das Sojalecithin im Vergleich zum Sonnenblumenlecithin besser an die Oberflächeneigenschaften der zerkleinerten Saccharosepartikel angepasst ist.

Der Einfluss einer Emulgatoranlagerung auf die Fettimmobilisierung an Saccharosepartikel wurde bereits für die Anwendung von Phospholipiden aus Soja untersucht [19]. Die Ergebnisse zeigten, dass das Vorbeigleiten der Saccharosepartikel durch die Anlagerung der Phospholipide an ihre Oberflächen erleichtert wird. So wurde die Bildung eines sehr kompakten Sedimentes durch erhöhte Fettfreisetzung nachgewiesen. Diese Angaben aus der Literatur entsprechen den Ergebnissen der oben aufgeführten Experimente.

3.2.2.8 Einfluss auf die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen

Des Weiteren wurden die Fließeigenschaften der Modellsuspension untersucht. Diese sollten wie bereits beim Vergleich der Zerkleinerungsarten mit dem Anteil an immobilisiertem Fett korrelieren (vgl. Kap. 3.1). Falls die Emulgatoren jedoch, wie oben angenommen, unterschiedliche Wirkungsweisen besitzen, müssten sich die Fließeigenschaften der Suspension nach Anwendung von PGPR zu denen nach Anwendung der Lecithine bzw. Zitronensäureester deutlich unterscheiden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abb. 3.37 dargestellt.

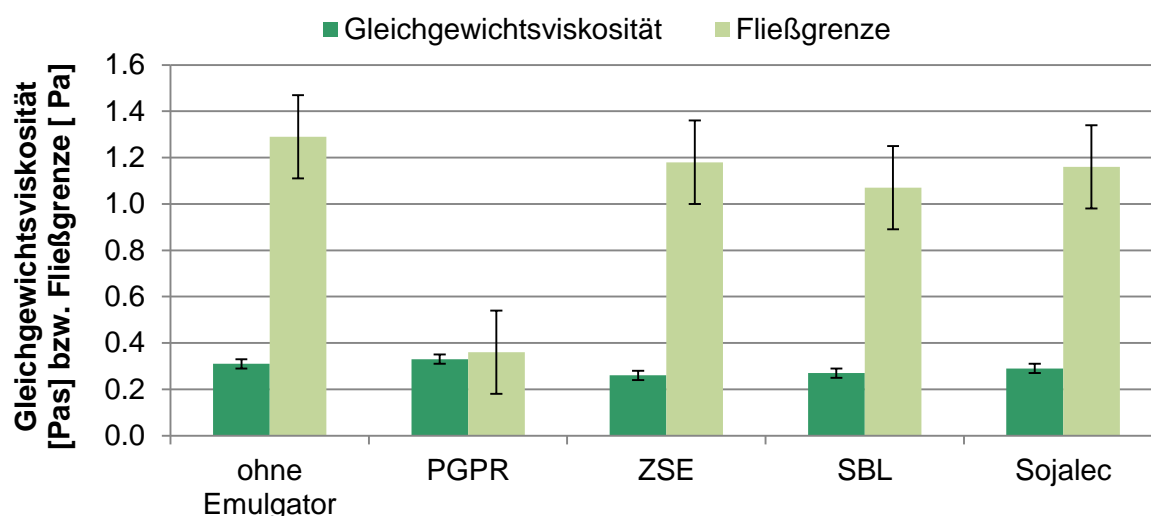


Abb. 3.37: Vergleich von Gleichgewichtsviskosität und Fließgrenze von Kakaobutter-Saccharose-Suspensionen ohne und mit verschiedenen Emulgatorzusätzen. Zerkleinerung der Saccharose mit Kugelmühle (Kugel-Ø 1,5 cm)

Wie bereits in Kap. 3.1.2 näher erläutert, bezieht sich die Standardabweichung nicht nur auf die Messung selbst, sondern auf die Varianz bei der Herstellung der Suspensionen. Sie berücksichtigt z.B. eine leicht abweichende Partikelgrößenverteilung, die niemals zu 100 % vergleichbar einzustellen war (vgl. auch Tab. 6.2 in Kap. 6.3.2). Dennoch können ausreichend große Unterschiede festgestellt werden. So besitzt die Modellsuspension ohne Zusatz eines Emulgators die höchste Fließgrenze. In diesem Fall liegen die stärksten interpartikulären Wechselwirkungen vor. Diese werden durch den Zusatz eines

Emulgators etwas herabgesetzt. Der Emulgator lagert sich an die Oberfläche der Saccharosepartikel an, sodass das Vorbeigleiten der Partikel aneinander erleichtert und eine Agglomeratbildung weitestgehend verhindert wird (vgl. auch Abb. 1.5). So kann der Übergang zum Fließen aufgrund der reduzierten interpartikulären Wechselwirkungen leichter erreicht werden als im Falle der Suspension ohne Emulgator.

Auffällig ist, dass die Fließgrenze der Suspension mit PGPR selbst unter Berücksichtigung der Standardabweichung deutlich niedriger ist als die Fließgrenze nach Anwendung der anderen Emulgatoren. Sie konnte durch das PGPR um etwa 70 % gesenkt werden. In dieser Beobachtung findet sich ein weiterer Hinweis auf eine unterschiedliche Wirkungsweise von PGPR (vgl. Kap. 3.2.2.8). Die Fließgrenzen der Suspensionen mit Zusatz von Zitronensäureestern und Sojalecithin sind eher miteinander vergleichbar, die nach Anwendung von Sonnenblumenlecithin ist demgegenüber leicht erniedrigt. Unter Berücksichtigung der Messunsicherheit kann jedoch kein eindeutiger Unterschied ausgemacht werden.

Auch Rousset und Mitarbeiter konnten feststellen, dass PGPR zur Reduktion der Fließgrenze in vergleichbaren Systemen hochwirksam, der Einfluss von Lecithin aber vergleichsweise gering ist [37]. Ebenso wurde die Viskosität in den beschriebenen Versuchen nur geringfügig herabgesenkt. Johansson und Bergenstahl haben in ihren Untersuchungen auch den Einfluss von Lecithin auf rheologische Eigenschaften, Sedimentation und Partikel-Partikel-Wechselwirkungen an Modellsystemen beschrieben [16]. Die Ergebnisse stimmen ebenfalls gut mit den in dieser Arbeit erhaltenen Daten überein.

Weitere rheologische Bestimmungen von Arnold und Mitarbeitern zeigten, dass eine Zugabe von Lecithin zu einer Abschwächung der Adhäsion zwischen Zuckeroberflächen in Öl führte. Diese Ergebnisse wurden zudem anhand von AFM Messungen nachvollzogen [17,92]. Jedoch waren diese Messungen durch hohe Abweichungen gekennzeichnet. Des Weiteren können diese Ergebnisse nicht auf die in Schokoladenmassen vorliegenden Oberflächen zerkleinerter Saccharosepartikel übertragen werden. Die dort untersuchten Oberflächen wurden durch Kristallisation aus einer Zuckerlösung erhalten.

3.2.3 Herleitung eines Konzeptes zur Wirkungsweise von PGPR [93]

Obwohl die Oberflächentopographien sowie die Kräfteverteilung im Falle des PGPR auf eine scheinbar gute Oberflächenbelegung hingedeutet hatten, konnte dies durch die quantitative Analytik nicht bestätigt werden. Es wurden vergleichsweise sehr geringe Mengen an PGPR gefunden (vgl. Tab. 3.2). Jedoch konnte gezeigt werden, dass diese geringen Gehalte einen Einfluss auf die Menge an immobilisierter Kakaobutter haben, der dem Einfluss einer deutlich größeren Menge an adsorbiertem Lecithin oder ZSE

vergleichbar ist (vgl. Abb. 3.36 sowie Tab. 3.2). Bei Betrachtung der Fließeigenschaften der Suspension konnten ebenfalls deutliche Unterschiede in Bezug auf PGPR festgestellt werden. Die Fließgrenze dieser Suspension war um Faktor drei geringer als die der Modellsuspension mit Lecithin oder ZSE (vgl. Abb. 3.38). Zudem war die mit PGPR ausgebildete Emulgatorschicht deutlich dicker, als die Schicht von z.B. Sojalecithin (vgl. Tab. 3.3). Ein rasterelektronenmikroskopischer Vergleich verdeutlicht ebenfalls die unterschiedliche Oberflächenbelegung mit PGPR im Vergleich zu Sojalecithin (vgl. Abb. 3.38).

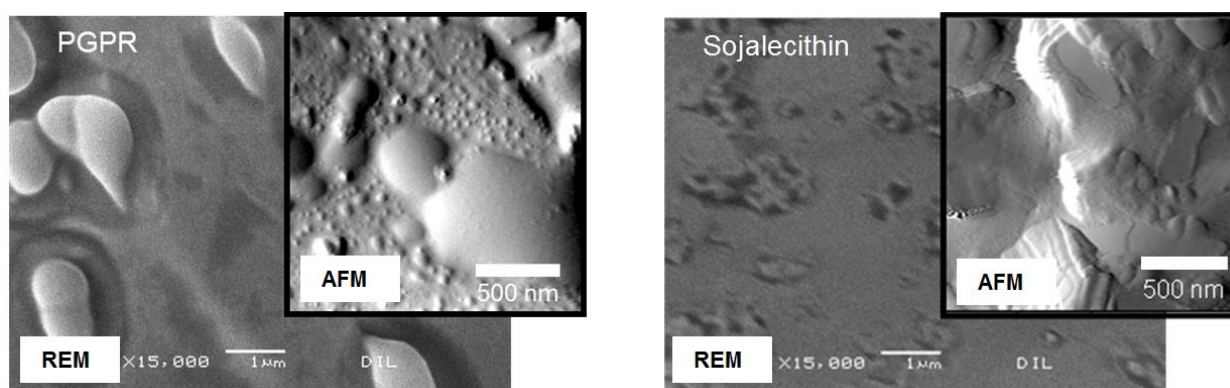


Abb. 3.38: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme mit AFM Topographie eines Saccharosepartikels abgetrennt aus einer mit PGPR (links) und einer mit Sojalecithin (rechts) hergestellten Modellsuspension

Was beim Vergleich dieser Oberflächen auffällt, ist die Art der Belegung. Bei Lecithin werden flache Inseln gebildet, die z.T. auch größere Agglomerate beinhalten. Bei PGPR zeigen sich tropfenförmige Auflagerungen, des Weiteren können um die veränderten Oberflächenbereiche Höfe ausgemacht werden. Auch dies ist zunächst nicht mit der geringen analytisch nachgewiesenen Menge PGPR in Einklang zu bringen. Zudem ist der Einfluss des PGPR auf die makroskopischen Eigenschaften der Kakaobutter-Saccharose-Suspensionen trotz seiner geringen Menge nicht unerheblich (s.o.). Vergleichbare Effekte eines PGPR Zusatzes zu Schokoladenmassen wurden bereits von Ghorbel und Mitarbeitern [18] sowie Schantz und Mitarbeitern [31] beobachtet und beschrieben. Einige Ansätze zur Erklärung der Wirkungsweise wurden von Rector in einem Review zusammengefasst [26] und sind im entsprechenden Kapitel dieser Arbeit beschrieben (vgl. 1.2.2).

Auf Grundlage dieser Hypothesen und der bereits bekannten Eigenschaften aus der Literatur und aus den Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit kann für das PGPR ein entsprechend erweiterter Wirkungsmechanismus postuliert werden. Dadurch werden die vergleichsweise schmale Adhäsivitätsverteilung mit Maxima im unteren Kräftebereich, die abweichende Oberflächentopographie (REM und AFM), die stark verringerte Fließgrenze bei gleichbleibender Viskosität und der deutliche Einfluss auf die Fettimmobili-

sierung bei einer geringen nachgewiesenen Menge an PGPR auf den Partikeloberflächen besser verständlich.

Die bereits beschriebenen Höfe um die mit den Emulgatormolekülen interagierenden Oberflächenbereiche können als eine Art Verarmungszone an Kakaobutter beschrieben werden, welche die blanke unbelegte Saccharoseoberfläche zeigen. Jedoch wurden nach PGPR Zusatz im Vergleich zu Lecithin größere Mengen immobilisierter Kakaobutter an den Partikeloberflächen gefunden (vgl. Abb. 3.36). Im Falle einer Kakaobutterverarmung auf den Oberflächen sollte dieser Wert jedoch im Vergleich zu einer unbelegten Partikeloberfläche sinken. Diese auf den ersten Blick widersprüchlichen Beobachtungen können dadurch erklärt werden, dass es sich bei den auf den Oberflächen befindlichen Strukturen um einen Komplex aus PGPR und Kakaobutter handelt. Des Weiteren ist anzunehmen, dass das PGPR in der kontinuierlichen Phase der Suspension auf gleiche Weise mit der Kakaobutter in Wechselwirkung steht. Daher sind die bisherigen Hypothesen zur Wirkungsweise von PGPR anzupassen (vgl. [26]).

Analyse der Grenzschicht auf den Saccharosepartikeln

Eine Analyse der auf den Saccharosepartikeln vorhandenen Grenzschicht (vgl. 6.5.4), die als Auflagerung in den mikroskopischen Bildern des REM und der AFM auf den Saccharosepartikeln zu sehen ist, bekräftigt die Annahme der Komplexbildung. Es wurden $83,2 \pm 1,9$ g Kakaobutter pro 100 g Grenzschicht nachgewiesen, die Menge des in der Grenzschicht vorhandenen PGPR betrug $0,30 \pm 0,2$ mg/m² Saccharoseoberfläche. Im Falle der mit Sojalecithin belegten Partikel ist die Belegung mit $3,13 \pm 0,2$ mg/m² deutlich größer. Diese Werte stehen in sehr guter Übereinstimmung mit den Werten aus der Differenzbestimmung über die kontinuierliche Phase (vgl. Tab. 3.2). Im Falle der mit Sojalecithin belegten Oberfläche kann jedoch der Anteil an Kakaobutter in der Grenzschicht nicht exakt angegeben werden. Die Bestimmung des Kakaobutteranteils erfolgt über das Verhältnis Tripalmitin zu Stearinsäure. Die Stearinsäure ist ebenfalls in größeren Mengen im Lecithin vorhanden, sodass zu hohe Kakaobutterwerte resultieren. Am PGPR Molekül sind diese Fettsäurereste jedoch nicht vorhanden und die Methode wird nicht beeinträchtigt.

Modifizierung der bestehenden Hypothesen

Die oben beschriebenen analytischen Befunde geben, wie bereits erwähnt, deutliche Hinweise auf eine Wechselwirkung in Form einer „Kissenbildung“ von PGPR mit der Kakaobutter. Diesbezüglich können die bereits bestehenden Hypothesen zur Wirkungsweise des PGPR erweitert werden. Diese „Kissen“ adsorbieren als locker gebundene

„Puffer“ an die Saccharoseoberfläche (vgl. Abb. 3.39). Auf diese Weise sorgen sie für eine sterische Separation der Partikel und verhindern die Ausbildung von festeren Strukturen in der Kakaobutter-Matrix. Dadurch kann ein Fließen der Suspension deutlich leichter induziert werden. Da die Partikel zudem gut aneinander vorbei gleiten können und die sterische Separation und Pufferwirkung der Kissen eine Aggregation verhindern, bleibt die Viskosität der Gesamtsuspension entsprechend niedrig.

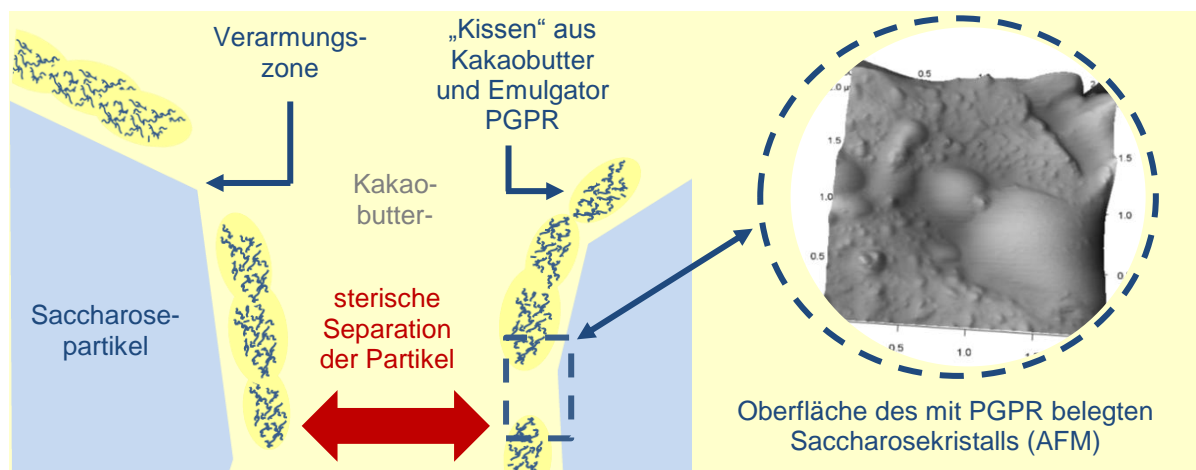


Abb. 3.39: Graphische Veranschaulichung der Wirkungsweise von PGPR

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen zeigte sich, dass auch bei einer Mischung aus PGPR mit einem anderen Emulgator wieder eine starke Absenkung der Fließgrenze resultiert (vgl. Kap. 3.3 sowie Abb. 3.47). Jedoch konnte eine Adsorption von PGPR an die Partikeloberflächen in diesen Suspensionen weder quantitativ noch über die AFM nachgewiesen werden (vgl. Tab. 3.2). Demzufolge besitzt PGPR selbst dann einen Einfluss auf die Fließgrenze, wenn es nur in Spuren an der Feststoffoberfläche vorhanden ist. Daher ist es nicht notwendig, dass die PGPR-Kakaobutter Kissen direkt an die Oberfläche adsorbiert vorliegen. Sie induzieren die gleichen Effekte, wenn sie sich in der kontinuierlichen Phase befinden. Jedoch ist die Strukturierung der kontinuierlichen Phase durch die Kissenbildung schwach ausgeprägt, sodass sowohl die Fließgrenze als auch die Viskosität klein bleiben. Die Strukturen werden bereits bei sehr geringen Scherraten aufgelöst. Diese Effekte werden durch Adsorption eines weiteren Emulgators direkt an die Partikeloberflächen nicht weiter beeinflusst (vgl. Kap. 3.3).

Konzentrationsabhängigkeit der Wirkungsweise

Anschließend wurde untersucht, ab welcher Konzentration der Einsatz von PGPR in den Modellsuspensionen in Bezug auf die Fließgrenze relevant wird. Dazu wurden PGPR-Konzentrationen von 0,1 bis 1,5 % bezogen auf den Saccharosegehalt der Suspension mit einem Fettgehalt von 55 % eingesetzt. Die Herstellung der Suspensionen wurde

analog Kap. 6.2 vorgenommen; für die Untersuchungen wurden die Suspension nach dem Conchieren verwendet (vgl. Kap. 6.4.2 sowie 6.4.4).

Wie aus Abb. 3.40 zu erkennen, sinkt die Fließgrenze der Suspension bereits ab einer Konzentration von 0,1 % im Vergleich zur Suspension ohne PGPR. Die Zugabe von 0,5 % bewirkt jedoch eine weitere, vergleichsweise starke Absenkung der Fließgrenze; eine vermehrte Zugabe an PGPR lässt die Fließgrenze weiter sinken. Bei einem Zusatz von 1,5% hat sich die Fließgrenze im Vergleich zu 0,5% PGPR fast noch einmal halbiert. Somit sind die Wechselwirkungen zwischen den zerkleinerten Saccharosepartikeln im betrachteten Konzentrationsbereich bei einem PGPR Anteil von 0,5 % stark herabgesetzt und ändern sich mit weiterer Erhöhung des PGPR-Anteils unter Berücksichtigung der Standardabweichung kaum noch.

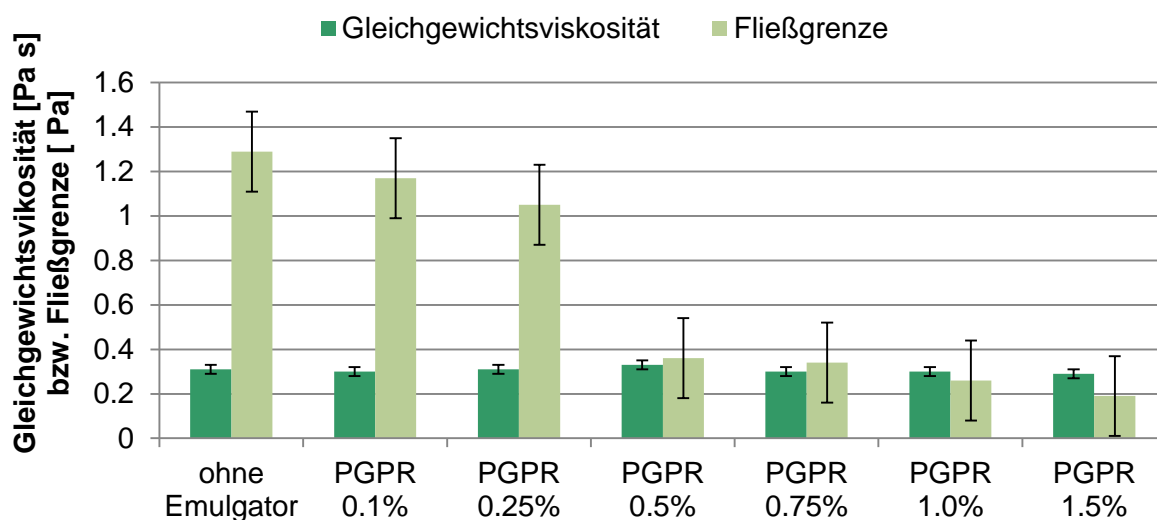


Abb. 3.40: Konzentrationsabhängigkeit der Fließeigenschaften von der PGPR Zugabe, Anteile bezogen auf den Saccharosegehalt

Die Verringerung der Fließgrenze und die minimierten interpartikulären Wechselwirkungen können sich auch im Anteil an immobilisiertem Fett widerspiegeln. Hier war eine leicht abnehmende Tendenz mit zunehmender PGPR Konzentration zu beobachten (vgl. Abb. 3.41). Jedoch konnte keine sprunghafte Reduzierung wie im Falle der Fließgrenze verzeichnet werden.

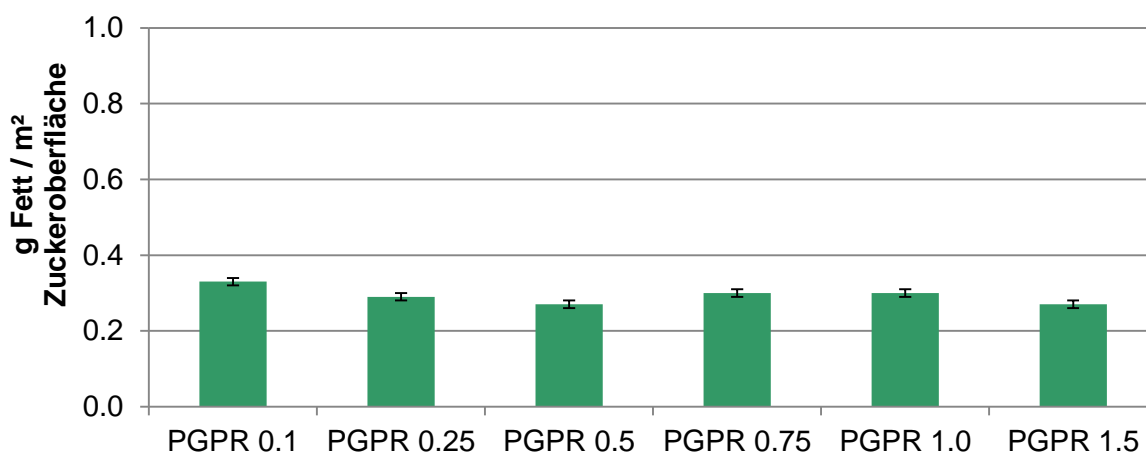


Abb. 3.41: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett durch die Saccharosepartikel aus den Suspensionen mit unterschiedlichem PGPR-Zusatz nach Zerkleinerung der Saccharose (Kugelmühle, Kugel-Ø 1,5 cm)

Dies unterstützt nochmals die Annahme, dass das PGPR bereits in der kontinuierlichen Phase wirksam wird und nicht notwendigerweise an die Partikeloberflächen adsorbiert sein muss. Trotzdem wird Kakaobutter freigesetzt, was sich im reduzierten Anteil an immobilisiertem Fett bemerkbar macht.

3.3 Einsatz von Emulgatorgemischen zur Optimierung der Oberflächeneigenschaften zerkleinerter Saccharosepartikel

Auf Basis der vorhergehenden Untersuchungen zur Anlagerung und Wirkungsweise einzelner Emulgatoren wurde nun der Einsatz von Emulgatorgemischen untersucht. Dabei sollten diese auf synergistische Effekte durch eine Kombination von Emulgatoren mit komplementären Eigenschaften geprüft werden. Diese Untersuchungen legen die Grundlage dafür, Sojalecithin durch adäquate Emulgatoren aus nicht genetisch veränderten Quellen zu ersetzen.

3.3.1 Auswahl der Emulgatorgemische

In Abb. 3.42 sind die bisherigen Ergebnisse in einer Art Rangfolge in Bezug auf die entsprechenden Eigenschaften noch einmal zusammengefasst (vgl. Kap. 3.2).

Es wird deutlich, dass die Zitronensäureester und das PGPR je nach untersuchtem Parameter komplementäre Eigenschaften bzw. Wirkungen besitzen. Sie bewirken eine für die Schokoladenherstellung vorteilhafte geringe Fließgrenze und Viskosität sowie einen möglichst geringen Anteil an immobilisiertem Fett.

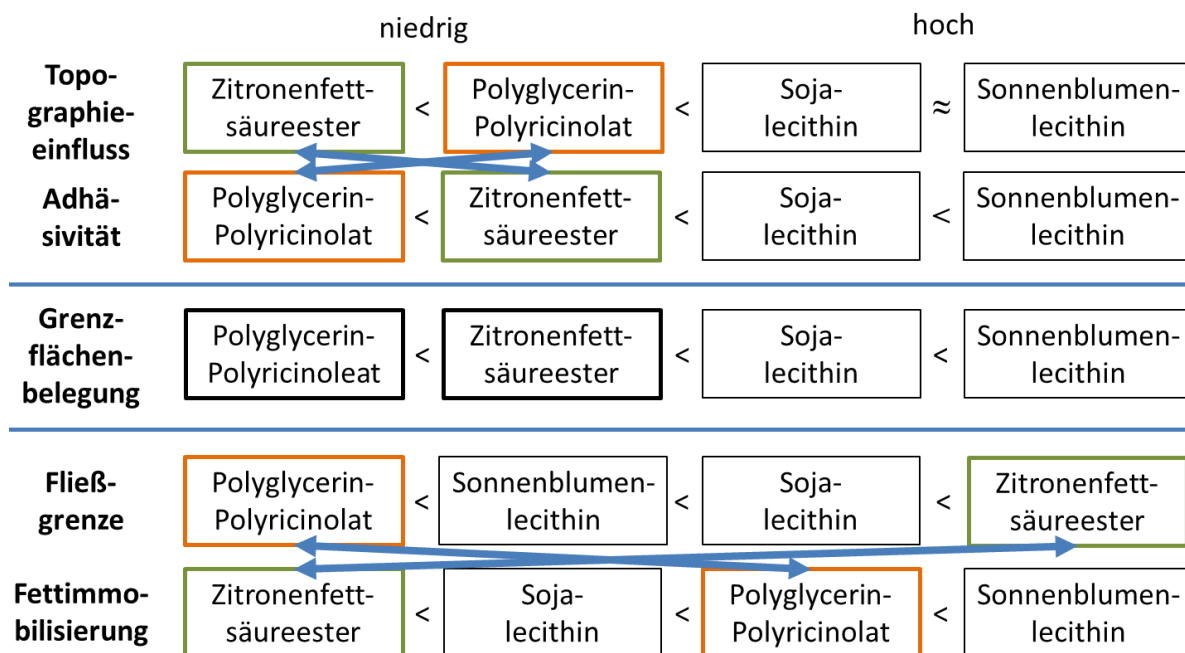


Abb. 3.42: Reihenfolge der Auswirkung auf die jeweiligen Eigenschaften in Bezug auf die Anwendung unterschiedlicher Emulgatoren in Saccharose-Kakaobutter-Suspensionen

Daher wurden die Versuche zunächst mit folgenden Emulgatorkombinationen durchgeführt:

- 1/3 Zitronensäureester + 2/3 PGPR
- 2/3 Zitronensäureester + 1/3 PGPR

Neben Mischungen aus Zitronensäureestern und PGPR werden auch Mischungen aus PGPR und Sonnenblumenlecithin untersucht:

- 1/3 PGPR + 2/3 Sonnenblumenlecithin
- 2/3 PGPR + 1/3 Sonnenblumenlecithin

Um zu verhindern, dass die gefundenen Effekte ausschließlich durch PGPR dominiert werden, wurden zusätzliche Gemische aus Zitronensäureestern und Sonnenblumenlecithin sowie ein Dreiergemisch eingesetzt:

- 1/3 Zitronensäureester + 2/3 Sonnenblumenlecithin
- 2/3 Zitronensäureester + 1/3 Sonnenblumenlecithin
- je 1/3 Zitronensäureester, PGPR sowie Sonnenblumenlecithin

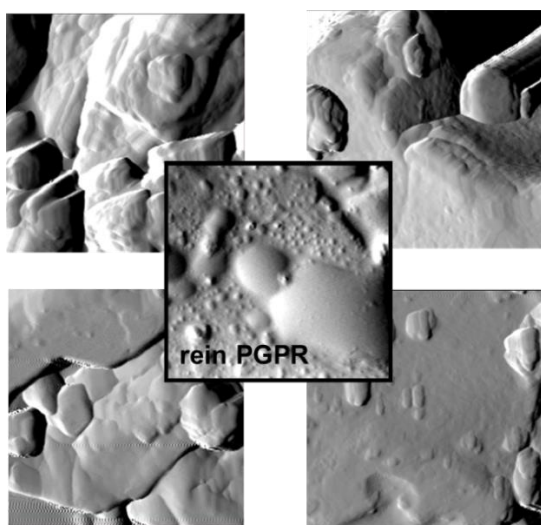
Die Gesamtemulgatorkonzentration betrug immer 0,5 % bezogen auf den Saccharosegehalt der Suspension.

3.3.2 Einfluss der Emulgatormischungen auf die Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel

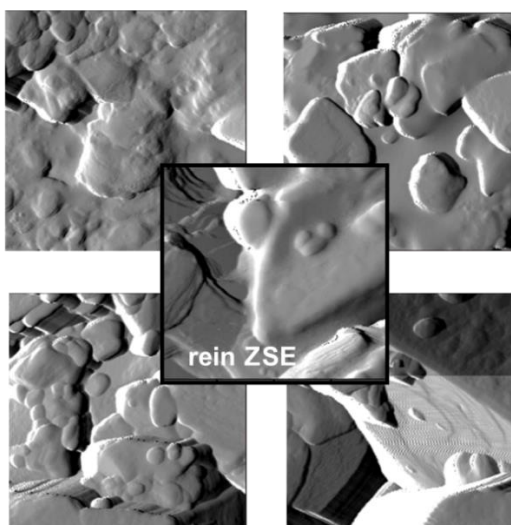
3.3.2.1 Rasterkraftmikroskopie der Saccharosepartikeloberflächen

Zunächst wurden die Oberflächen der Saccharosepartikel aus diesen Suspensionen wiederum mittels AFM charakterisiert (vgl. Kap. 6.4.4). In den folgenden Abbildungen sind jeweils vier charakteristische Oberflächentopographien pro Emulgatormischung gezeigt. Im Mittelpunkt ist zum Vergleich eine Oberfläche nach Belegung der zerkleinerten Saccharosepartikel mit der Einzelsubstanz dargestellt.

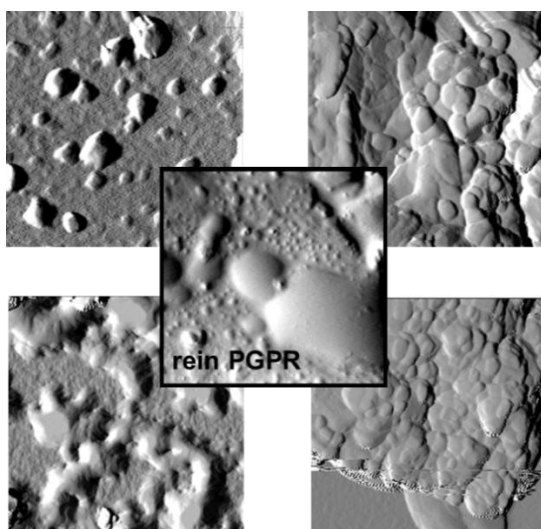
Mischung 1 aus
1/3 Zitronensäureester + 2/3 PGPR



Mischung 2 aus
2/3 Zitronensäureester + 1/3 PGPR



Mischung 3 aus
1/3 PGPR + 2/3 Sonnenblumenlecithin



Mischung 4 aus
2/3 PGPR + 1/3 Sonnenblumenlecithin

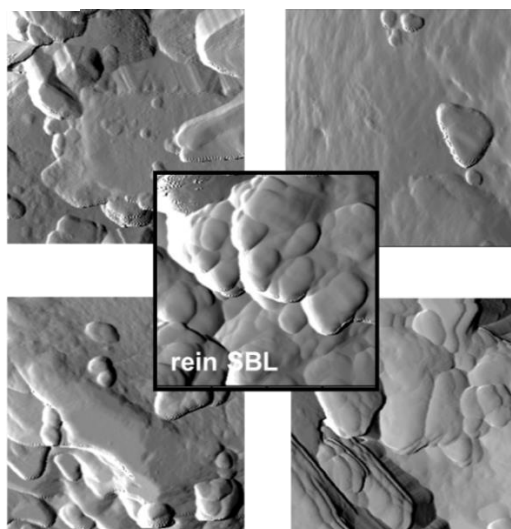
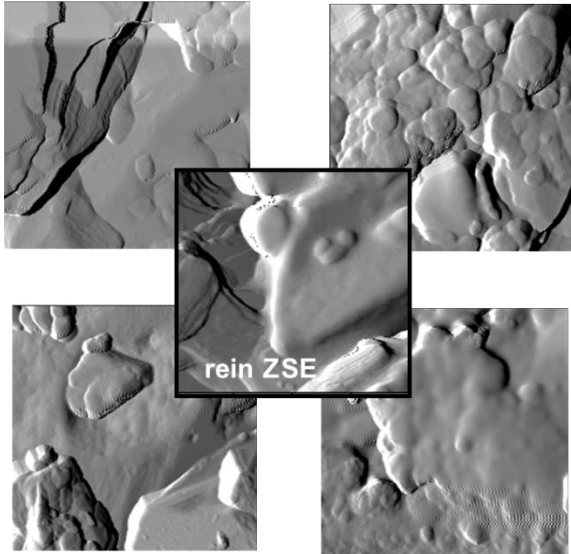


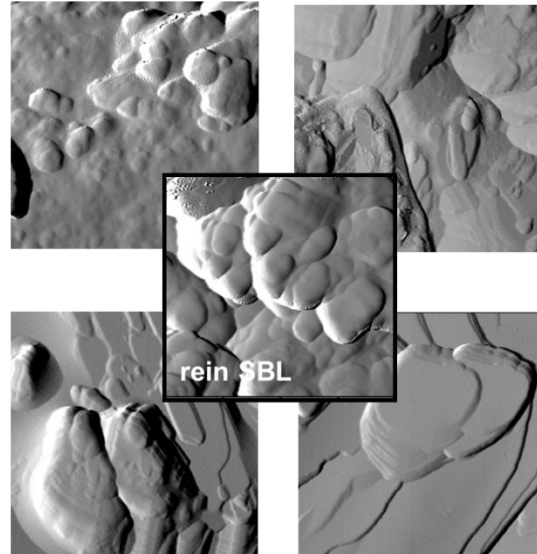
Abb. 3.43: Oberflächentopographie von mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerter Saccharose nach Anlagerung von Emulgatoren eines Emulgatormischungen, Bildgröße 2 x 2 µm

Ein Vergleich mit den Topographien nach Belegung mit der Einzelsubstanz (vgl. auch Abb. 3.18 bis Abb. 3.21) zeigt, dass charakteristische Topographien, wie sie bei den einzelnen Emulgatoren gemessen wurden, nur teilweise erkennbar sind. Es fällt schwer, das PGPR bzw. die PGPR-Kakaobutter-Kissen in den Abbildungen zu den Mischungen 1 und 2 zu finden. Gleiches gilt für die Mischungen 3 und 4, da hier die Topographie stark vom Sonnenblumenlecithin dominiert wird.

Mischung 5 aus 1/3 Zitronensäureester +
2/3 Sonnenblumenlecithin



Mischung 5 aus 2/3 Zitronensäureester +
1/3 Sonnenblumenlecithin



Mischung 7 aus je 1/3 Zitronensäureester, 1/3 PGPR sowie 1/3 Sonnenblumenlecithin

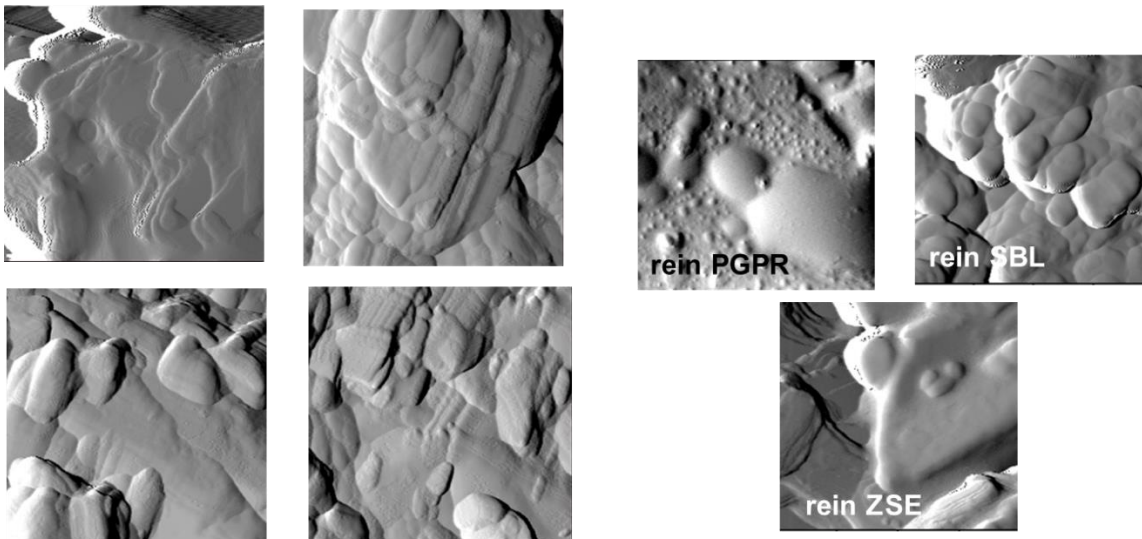


Abb. 3.44: Oberflächentopographie von mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerter Saccharose nach Anlagerung von Emulgatoren eines Emulgatorgemisches, Bildgröße 2 x 2 µm

In den Topographien der Mischungen 5 und 6 ist grundsätzlich eine Adsorption von Emulgatoren erkennbar, es kann jedoch nicht zwischen den beiden Mischungen unter-

scheiden werden. Die Bilder zur Charakterisierung der Mischung 7 zeigen nur zwei der drei Emulgatoren; das Sonnenblumenlecithin und die Zitronensäureester sind gut erkennbar, das PGPR kann hier nicht ausgemacht werden. In wie weit diese Beobachtungen zutreffend sind, kann wieder über die quantitative Bestimmung der Grenzflächenbelegung erfolgen.

3.3.2.2 Bestimmung der Grenzflächenbelegung von Saccharosepartikeln mit Emulgatormischungen

Aus Tab. 3.2 war bereits ersichtlich, dass PGPR in sehr geringen Mengen an den Partikeloberflächen gefunden wurde. Wie schon in Kap. 3.2.2.8 eingehend diskutiert, ist im Fall von PGPR jedoch nicht allein der an den Partikeln adsorbierte Anteil für die Wirkung dieses Emulgators ausschlaggebend. Eine Kissenbildung kann auch innerhalb der lipophilen Phase erfolgen und zur Wirkung kommen. Unter anderem wird dies anhand der nachfolgenden Untersuchungen deutlich.

Abb. 3.45 zeigt zunächst die an die Partikeloberflächen adsorbierten Emulgatormengen. Im linken Bereich sind zum Vergleich noch einmal die Werte der Einzelsubstanzen aus Tab. 3.2 dargestellt. Die Kombination der drei Emulgatoren Zitronensäureester, PGPR und Sonnenblumenlecithin ist in Abb. 3.45 im rechten Teil dargestellt.

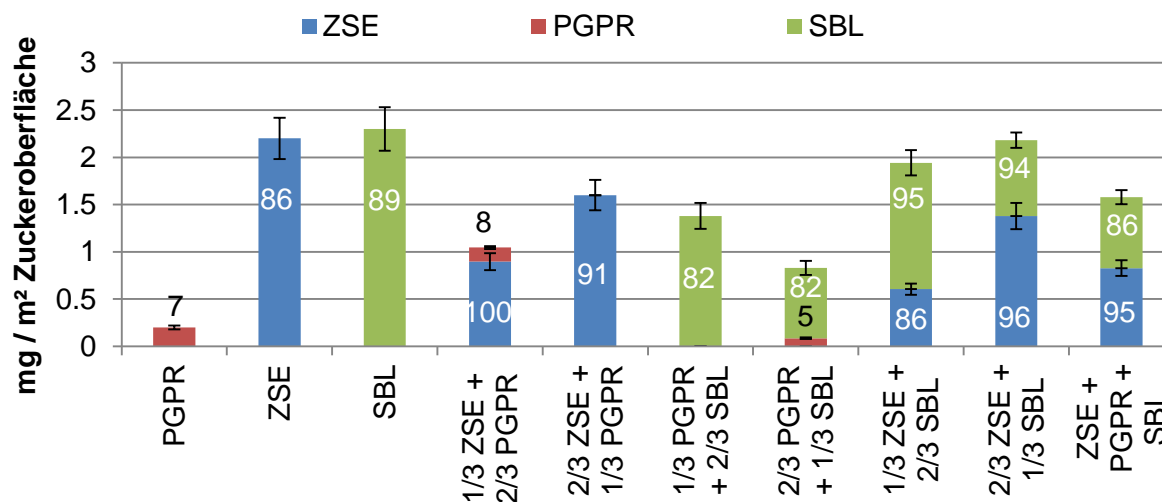


Abb. 3.45: Grenzflächenbelegung nach Anlagerung von Emulgatormischungen auf den mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln, Zahlen geben den prozentualen Gehalt des adsorbierten Emulgators in Bezug auf die eingesetzte Gesamtmenge an

Zunächst wird deutlich, dass PGPR auch im Gemisch nur in sehr kleinen Mengen an den Partikeloberflächen nachgewiesen wurde. Es wurde weniger als 10 % der eingesetzten Emulgatormenge adsorbiert. Hier spielen zum einen sterische Gründe eine Rolle. So ist die Adsorption kleinerer Moleküle wie der Zitronensäureester oder der Phospholipide des Lecithins im Vergleich zu komplexeren und größeren Strukturgebilden wie der PGPR-

Kissen begünstigt. Zum anderen ist die Affinität dieser unpolaren Kissen zur Saccharoseoberfläche relativ gering. Das Bestreben der amphiphilen Moleküle der Phospholipide und Zitronensäureester, eine Wechselwirkung mit der Saccharoseoberfläche einzugehen, ist deutlich höher.

Des Weiteren ist die Adsorption der Zitronensäureester und des Sonnenblumenlecithins bei Anwendung im Gemisch gegenüber der Verwendung als Einzelsubstanz deutlich gesteigert. Im Gemisch wurden z.B. im Falle der Zitronensäureester 86 - 100 % von der eingesetzten Emulgatormenge adsorbiert, wohingegen die Adsorption als Einzelsubstanz nur zu 86 % stattgefunden hat. Es sind somit Synergieeffekte durch Einsatz des Emulgatorgemisches erkennbar. Für das Sonnenblumenlecithin kann eine vergleichbare Aussage nicht getroffen werden. Bei Einsatz des Sonnenblumenlecithins gemeinsam mit PGPR zeigt sich aber, dass die Adsorption mit 82 % geringer ist als in der Kombination mit Zitronensäureestern. Hier wird das Sonnenblumenlecithin zu ca. 95 % adsorbiert.

Eine Konkurrenz zwischen der Anlagerung von Zitronensäureester und Sonnenblumenlecithin ist nicht gegeben (vgl. Kap. 3.3.4). Aber, wie bereits eingangs beschreiben, wird die Adsorption des Lecithins und der Zitronensäureester durch die PGPR-Kakaobutter-Kissen verändert. Die letztgenannten Ergebnisse zeigen, dass dies für das Sonnenblumenlecithin in stärkerem Maße gilt als für die Zitronensäureester.

3.3.2.3 Fettimmobilisierung an den Saccharosepartikeln

Aufgrund der AFM-Analyse und der Ergebnisse der Grenzflächenbelegung (s.o.) sollte ein Gemisch aus Zitronensäureestern und Sonnenblumenlecithin gut geeignet sein, das bisher verwendete Sojalecithin zu ersetzen. Diese Gemische sollten eine für die Schokoladenherstellung vorteilhafte geringe Fließgrenze und Viskosität sowie einen möglichst geringen Anteil an immobilisiertem Fett auf den Partikeloberflächen sowie in Toträumen von Partikelaggregaten bewirken. Diese Parameter werden ebenfalls geprüft.

Der Anteil an immobilisiertem Fett bei Anwendung dieser Mischungen ist mit den Anteilen nach alleinigem Einsatz von Sojalecithin vergleichbar (vgl. blaue und hellgrüne Balken in Abb. 3.46).

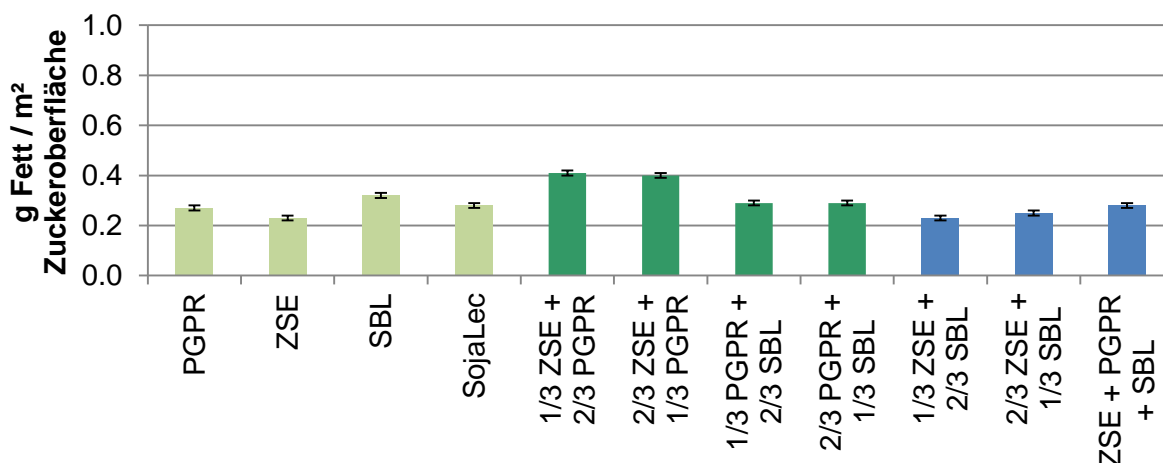


Abb. 3.46: Vergleich des Anteils an immobilisiertem Fett an den Saccharosepartikeln aus den Suspensionen mit Zusatz von Emulgatorgemischen und Einzelsubstanzen nach Zerkleinerung der Saccharose mittels Kugelmühle, vgl. auch Abb. 3.36

Des Weiteren werden die synergistischen Effekte der Emulgatoren deutlich. So ist die Fettimmobilisierung für die Gemische aus Zitronensäureester und Sonnenblumenlecithin etwa identisch mit den Werten nach alleiniger Anwendung der Zitronensäureester. Es können allerdings niedrigere Werte als bei alleiniger Anwendung von Sonnenblumenlecithin erhalten werden. Im Vergleich zu letzterem ergeben sich daher Synergien, nicht aber im Vergleich zu den Zitronensäureestern. Somit kann die positive Wirkung der Zitronensäureester-Sonnenblumenlecithin-Gemische gezeigt werden.

Des Weiteren wird eine leicht erhöhte Fettimmobilisierung bei Anwesenheit von PGPR im Emulgatorgemisch beobachtet. Dies lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass sich die Kakaobutter-PGPR-Kissen nicht so leicht von den Partikeloberflächen bzw. aus den Partikelzwischenräumen abzentrifugieren lassen wie reine Kakaobutter. Bei Anwesenheit von Zitronensäureestern war dieser Effekt noch verstärkt.

3.3.3 Einfluss der Emulgatorgemische auf die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen

Neben günstigen Eigenschaften in Bezug auf eine niedrige Fettimmobilisierung sollte der Einsatz von Emulgatorgemischen zudem vergleichbare Fließeigenschaften der Suspension wie nach alleinigem Zusatz von Sojalecithin aufweisen (niedrige Fließgrenze und Viskosität). Abb. 3.47 zeigt, dass die Anwendung von Emulgatorgemischen die Fließgrenze weiter herabsetzt als ein einzelner Emulgator (Ausnahmen: PGPR als Einzelsubstanz und ein bestimmtes Gemisch, s.u.). Auch die Suspensionen, an deren Saccharosepartikeln das PGPR nicht nachgewiesen werden konnte, zeigen eine verringerte Fließgrenze. Dies unterstützt wiederum die Annahme, dass die PGPR-Kakaobutter-Kissen auch in der kontinuierlichen Phase zur Wirkung kommen und einen Einfluss auf

die Fließgrenze haben. Nur beim alleinigen Einsatz von PGPR ohne Zusatz weiterer Emulgatoren konnte die Fließgrenze der Suspension noch weiter verringert werden.

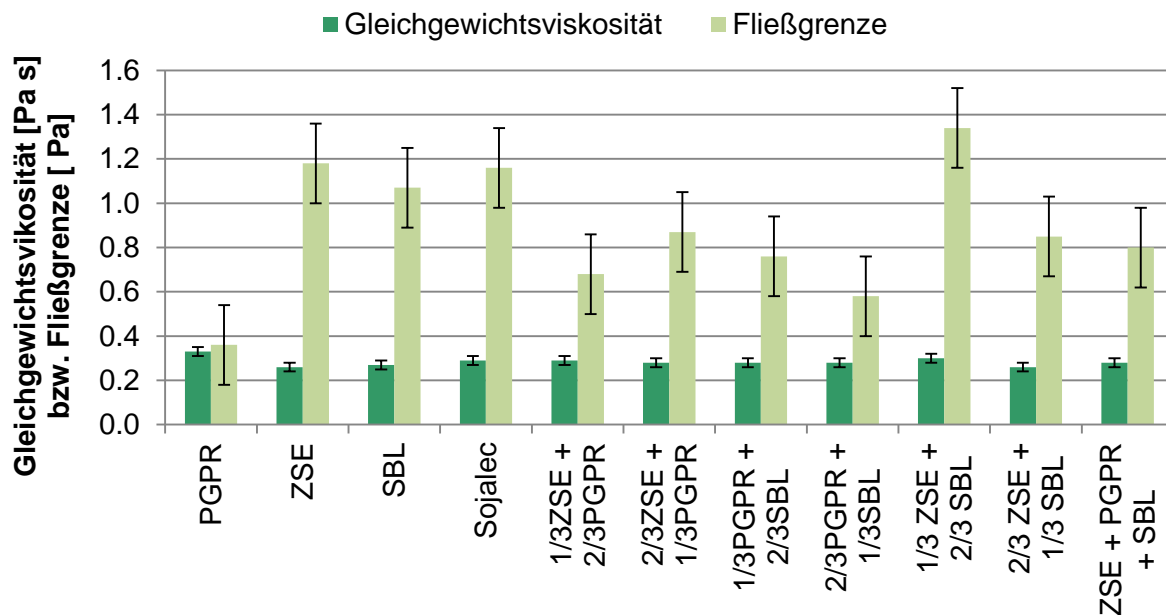


Abb. 3.47: Vergleich der Fließgrenze und Gleichgewichtsviskositäten von Kakaobutter-Saccharose-Suspensionen mit verschiedenen Emulgatorgemischen, Zerkleinerung der Saccharose mittels Kugelmühle, Kugel-Ø 1,5 cm

Auffällig ist jedoch das Gemisch aus 2/3 Zitronensäureestern und 1/3 Sonnenblumenlecithin. Es besitzt, obwohl PGPR-frei, eine mit den PGPR enthaltenen Suspensionen vergleichbare niedrige Fließgrenze. An dieser Stelle sind offensichtlich wie auch immer geartete synergistische Effekte zwischen den Zitronensäureestern und dem Sonnenblumenlecithin für die vergleichsweise starke Reduktion der Fließgrenze verantwortlich.

Die stark erhöhte Fließgrenze beim Einsatz des Emulgatorgemisches von 1/3 Zitronensäureester und 2/3 Sonnenblumenlecithin lässt darauf schließen, dass eine intensivere Partikel-Partikel-Wechselwirkung vorherrscht. Beim gegenwärtigen Kenntnisstand ist diese Tatsache jedoch nicht vollständig erklärbar.

3.3.4 Vergleich der Eigenschaften beim Einsatz von unterschiedlichen Gesamtemulgatorkonzentrationen

Aus den Ergebnissen zur Grenzflächenbelegung geht hervor, dass die Anlagerung der Zitronensäureester und der Phospholipide offenbar ohne Konkurrenz zueinander stattfindet. Zur genaueren Untersuchung wurden daher die Emulgatorgehalte der folgenden Mischungen auf 1 % - anstatt 0,5 % - erhöht, außerdem wurde ein 50: 50 Gemisch zur Herstellung der Suspension eingesetzt:

- Mischung 8: 1/3 Zitronensäureester + 2/3 Sonnenblumenlecithin
- Mischung 9: 2/3 Zitronensäureester + 1/3 Sonnenblumenlecithin
- Mischung 10: 1/2 Zitronensäureester + 1/2 Sonnenblumenlecithin

Unter Berücksichtigung der Messunsicherheit adsorbierten sowohl der Zitronensäureester als auch das Lecithin entsprechend der eingesetzten Verhältnisse. Die Gesamtmenge an adsorbiertem Emulgator war wie zu erwarten etwa doppelt so hoch (vgl. Abb. 8.15 im Anhang auf Seite 142). Es konnte also gezeigt werden, dass die Anlagerung der Zitronensäureester und der Phospholipide des Sonnenblumenlecithins im untersuchten Konzentrationsbereich ohne Konkurrenz zueinander stattfindet.

Des Weiteren sind die Fließeigenschaften und der Anteil an immobilisiertem Fett bei dem besonders effektiven Emulgatorgemisch aus 2/3 Zitronensäureester und 1/3 Sonnenblumenlecithin mit denen der 1/3 und 2/3 Gemische geringerer Gesamtkonzentration vergleichbar (vgl. Abb. 8.16 im Anhang auf Seite 142). Mit Ausnahme der Fließgrenze gilt dies auch für das Gemisch mit 50% des jeweiligen Emulgators. Wie bereits bei der Analyse nach Einsatz des Emulgatorgemisches von 1/3 Zitronensäureester und 2/3 Sonnenblumenlecithin auffiel, liegen auch bei diesem Gemisch intensivere Partikel-Partikel-Wechselwirkungen vor (vgl. Abb. 3.47). Eine eindeutige Erklärung der resultierenden Erhöhung der Fließgrenze kann auch hier beim gegenwärtigen Kenntnisstand nicht gegeben werden.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Zur Schokoladenherstellung werden zerkleinerte, hydrophile Feststoffpartikel wie Milchpulver, Kakaofeststoff und Saccharose in eine lipophile Phase aus Kakaobutter eingebunden. Hierzu ist der Einsatz von Emulgatoren notwendig. In der Regel wird dazu ein Gemisch aus Sojalecithin und Polyglycerin-Polyricinolat (PGPR) verwendet, welches gleichzeitig zur Einstellung der Fließeigenschaften der flüssigen Schokoladenmassen dient. Die Fließeigenschaften können im Verlauf des Produktionsprozesses außerdem durch Zusatz von Kakaobutter oder auch von Emulgatoren wie Zitronensäureester mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren und auch PGPR weiter optimiert werden. Dies geschieht je nach Rezeptur und Herstellungsprozess bis heute jedoch allein auf Grundlage von Erfahrungswerten.

Um den Einsatz dieser Emulgatoren besser verstehen und erklären zu können, müssen ihre Wirkungsmechanismen und Effekte sowohl auf mikroskopischer als auch auf makroskopischer Ebene analysiert werden. Dies war Ziel der vorliegenden Arbeit.

Dazu wurde zunächst der Einfluss einer Zerkleinerung von Saccharosepartikeln in lipophilen Modellsuspensionen untersucht. Mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie (AFM) wurden die Oberflächeneigenschaften dieser Saccharosepartikel charakterisiert, nachdem sie durch unterschiedliche Verfahren in der lipophilen Phase von Kakaobutter zerkleinert worden waren. Dabei wurde deutlich, dass eine je nach Zerkleinerungsart unterschiedlich veränderte Oberflächentopographie entsteht. Nach einer Schlagmühlengerkleinerung traten vorwiegend scharf abgegrenzte stufenartige Strukturen auf. Diese konnten über die Messung der Stufenhöhe auf die Kristallstruktur von Saccharose zurückgeführt werden. Die Stufenhöhe korrelierte mit einer Saccharosedimension (molekulare Auflösung). Die Bearbeitung mit der Kugelmühle resultierte sowohl in solchen Stufenstrukturen als auch in eher unstrukturierten Oberflächenbereichen. Die Zerkleinerung mit der Walze brachte ebenfalls stufenartige Strukturen hervor.

Um diese Veränderungen der Oberflächenbeschaffenheit hinsichtlich der Adhäsionseigenschaften zu untersuchen, wurden kraftspektroskopische Messungen mittels AFM durchgeführt. Die Verteilung der Adhäsionskräfte zwischen der Messspitze und der Saccharose wurde für jede Zerkleinerungsart bestimmt. Dabei wurde deutlich, dass die stufenartigen Oberflächenbereiche nach Schlagmühlengerkleinerung eine eher geringere Adhäsivität besaßen als beispielsweise die unstrukturierten Oberflächenbereiche nach Kugelmühlengerkleinerung. Die Verteilung der Adhäsivität nach Walzenzerkleinerung zeigte je einen scharf abgrenzbaren Kräftebereich bei niedrigen und einen bei höheren Kräften. Dies gab Hinweise auf strukturierte Oberflächenbereiche, die jedoch unter

größeren Erhebungen verborgen waren. Auch die Fettimmobilisierung fiel nach Walzenzerkleinerung geringer aus; ebenso wurden die Viskositäten und auch die Fließgrenzen der entsprechenden Modellsuspension gesenkt. Diese Effekte konnten jedoch nicht allein auf die Verkleinerung der Partikeldurchmesser zurückgeführt werden. Die Ergebnisse zeigten daher, dass die Polaritätseigenschaften der nach Walzenzerkleinerung entstandenen Oberflächen verändert wurden, sodass diese Saccharosepartikel für die Produktion qualitativ hochwertiger Schokoladen besser geeignet sind als z.B. die Partikel nach Kugelmühlengerkleinerung.

Die Untersuchungen zeigten weiterhin, dass sowohl die Oberflächenadhäsivität als auch die Oberflächentopographie der Saccharosepartikel Rückschlüsse auf kristalline und amorphe Bereiche zulässt. Zwar ist die Amorphisierung von Partikeloberflächen durch Zerkleinerung bereits bekannt, jedoch konnte nun erstmals mit Hilfe der lokalen thermischen Analyse (LTA) über AFM nachgewiesen werden, dass auf einer Saccharosepartikeloberfläche von z.B. $5 \times 5 \mu\text{m}$ nach mechanischer Einwirkung sowohl amorphe als auch kristalline Bereiche gleichzeitig zu finden sind. So traten z.B. nach Kugelmühlengerkleinerung enge Bereiche mit stärkerer Adhäsionskraft auf, die mit einer weniger strukturierten Oberflächentopographie korreliert werden konnten. Diesen Oberflächen wurden mittels LTA als amorphe Bereiche identifiziert. Im Falle von z.B. mittels Schlagmühle zerkleinerter Saccharose traten geringe Kräfte in einer schmalen Verteilung auf, die scharf abgegrenzten, aller Voraussicht nach kristallinen Stufenstrukturen zuzuordnen waren.

In weiteren Experimenten wurden diese durch Zerkleinerung veränderten Oberflächenbereiche mit Emulgatoren belegt. Für die Untersuchungen wurden Soja- und Sonnenblumenlecithin (Gemische unterschiedlicher Phospholipidfraktionen), PGPR (ein höher molekulares Kondensat aus Ricinolsäure und Glycerin) sowie Zitronensäureester mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäuren eingesetzt. Mit Hilfe der AFM konnten zunächst belegte und unbelegte Oberflächenbereiche topographisch voneinander abgegrenzt werden. Besonders gut gelang dies im Falle des PGPR. Dort zeigten sich tropfenförmigen Auflagerungen, die als Komplexe aus PGPR und Kakaobutter identifiziert werden konnten. Ebenfalls deutliche Unterschiede zeigten sich nach Messung der Oberflächenadhäsivitäten. Hervorzuheben ist an dieser Stelle, dass die Verteilung der Adhäsionskräfte nach Anwendung von Sojalecithin deutlich breiter war als bei den mit Sonnenblumenlecithin belegten Partikeln. Diese Unterschiede spiegelten sich auch im Anteil an immobilisiertem Fett wider; dieser war nach Anwendung des Sojalecithins geringer als in der mit Sonnenblumenlecithin hergestellten Modellsuspension. Wie erwartet waren jedoch die Emulgatorschichtdicken vergleichbar. Somit konnte gezeigt werden,

dass das Sojalecithin besonders gut an die durch Zerkleinerung entstandenen Oberflächenbereiche unterschiedlicher Polarität angepasst ist. Eine Korrelation der Emulgatoranlagerung zu den amorphen und kristallinen Oberflächenbereichen konnte bisher jedoch für keinen dieser Emulgatoren vorgenommen werden. Allerdings konnte festgestellt werden, dass die Oberflächenadhäsivität genauso wie die Topographiemessungen Rückschlüsse auf Stärke und Homogenität der Belegung mit Emulgatoren zulassen. Diese Rückschlüsse wurden durch die quantitative Emulgatoranalytik und die Schichtdickenabschätzung sowie durch die Bestimmung der makroskopischen Eigenschaften der Modellsuspensionen wie Rheologie und Fettimmobilisierung bekräftigt. Im Falle des PGPR wurden die geringste Menge an den Partikeloberflächen gefunden. Im Vergleich zu den anderen Emulgatoren, die in deutlich größeren Mengen adsorbieren, resultiert aus dem PGPR-Zusatz aber die größte Schichtdicke. Dies gibt einen Hinweis auf die unterschiedliche Wirkungsweise der Emulgatoren (siehe unten).

Für die Deutung und Bewertung dieser Ergebnisse musste jedoch berücksichtigt werden, dass es sich bei den eingesetzten Emulgatoren nicht um genau definierte Substanzen handelt, sondern um Gemische, deren Komponenten zum Teil größere strukturelle Unterschiede aufweisen. Daher bleiben einige Fragestellungen offen. Wie verändern sich die Beobachtungen z.B. bei Einsatz von Zitronensäureestern mit höherem Zitronensäureanteil (erhöhte Polarität, abweichende Molmasse) oder bei Verwendung von PGPR mit verändertem Kondensationsgrad? Des Weiteren kann beispielsweise nicht genau gesagt werden, ob die beschriebenen Unterschiede zwischen dem Einsatz von Sonnenblumen- und Sojalecithin allein auf die unterschiedliche Phospholipidzusammensetzung dieser Substanzen zurückzuführen ist. So könnten auch die Fettsäureverteilung und der Anteil an ungesättigten Fettsäuren ebenfalls eine wesentliche Rolle spielen. Welche Effekte werden mit Lecithin aus anderen Quellen, wie beispielsweise Raps, erhalten?

Unabhängig von diesen Fragestellungen konnten jedoch weitere Erkenntnisse zunächst in Bezug auf die Wirkungsweise von Lecithin an Saccharosegrenzflächen erlangt werden. Am Beispiel der Anlagerung von Phosphatidylcholin konnte anhand von Topographieaufnahmen und Adhäsivitätskarten der Partikeloberflächen gezeigt werden, dass eine Adsorption vorzugsweise im Bereich der planen Oberfläche stattfindet und nicht an stufenartigen Strukturen. Dies ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf sterische Hinderung und Polaritätseffekte der freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome an der Saccharoseoberfläche zurückzuführen. Die Untersuchung der diffusionsgesteuerten Anlagerungskinetik zeigte weiterhin, dass sich ein dynamisches Gleichgewicht aus Adsorption und Desorption der PC Moleküle einstellt.

Des Weiteren konnte im Rahmen der Untersuchungen zur Emulgatoranlagerung die Wirkungsweise von PGPR weiter aufgeklärt werden. Als höher molekulares Kondensat aus Ricinolsäure und Glycerin zeigt PGPR eine starke Wechselwirkung mit der Kakaobutter, welche in einer Kissenbildung resultiert. Diese Kissen werden zwar nur in vergleichsweise geringem Ausmaß auf den Saccharosepartikeln adsorbiert, entfalten ihre Wirkung aber vor allem in der kontinuierlichen Phase. Auf diese Weise sorgen sie für eine sterische Separation der Partikel und verhindern den Aufbau von supramolekularen Strukturen in der Kakaobutter-Matrix. Dadurch kann ein Fließen der Suspension sehr leicht induziert werden. Da die Partikel zudem gut aneinander vorbeigleiten können und die sterische Separation durch die Kissen eine Agglomeration von Partikeln verhindert, bleibt die Viskosität der Gesamtsuspension bei gleichzeitiger Reduktion der Fließgrenze entsprechend niedrig.

Neben grundlegenden Erkenntnissen zur Veränderung und Amorphisierung von Saccharosepartikeloberflächen, der Wirkungsweise von PGPR sowie den Untersuchungen zur Anlagerung von Lecithin auf molekularer Ebene konnten ebenfalls Zusammenhänge aufgeklärt werden, die einen direkten praktischen Nutzen für die Herstellung von Schokolade versprechen. Vor dem Hintergrund, das aus GMO erzeugte Sojalecithin durch Emulgatoren aus nicht genetisch veränderten Pflanzen zu ersetzen, wurden die Wechselwirkungen der genannten Emulgatoren auch in Gemischen untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass eine Mischung aus 1/3 Zitronensäureestern und 2/3 Sonnenblumenlecithin geeignet sein kann, das bisher verwendete Sojalecithin in Schokolade adäquat zu ersetzen. Dieses Gemisch war zudem genauso wirksam wie die Mischungen, die PGPR enthielten. So wurden ebenfalls die Grundlagen dafür gelegt, den Einsatz dieses Emulgators zukünftig zu reduzieren.

5 Summary and future prospect

For chocolate production, ground hydrophilic particles such as milk powder, cocoa solids and sucrose have to be integrated in a lipophilic phase of cocoa butter. Therefore, emulsifiers are necessary. Generally, a mixture of soy lecithin and polyglycerol polyricinoleate (PGPR) is used which also serves to adjust the flow properties of the liquid chocolate mass. During the production process, the flow properties can be further optimized by the addition of cocoa butter or other emulsifying agents such as citric acid esters. It depends on formulation and manufacturing process of the chocolate product. However, type and dosage of emulsifiers is still based on empirical methods.

In order to understand and explain the use of emulsifiers on a mechanistic and molecular level, their effects have to be analyzed at both, microscopic and macroscopic scale. This was the aim of the present work.

For this purpose, at first, the influence of different grinding methods on sucrose particles in lipophilic model suspensions was investigated. Therefore, an atomic force microscope (AFM) was used. Depending on the grinding technology, different surface topographies were found. After impact milling, sharply defined step-like structures predominated. By measuring the height, the steps could be identified as several sucrose molecules. Treatment with ball mill also resulted in such step-like structures, but in addition, less structured areas were also present. Roller milling also produced stepped structures.

In order to investigate the changes in surface state with respect to adhesion properties and amorphous and crystalline regions, AFM force spectroscopy measurements were performed and evaluated. Distribution of adhesion forces between the AFM tip and the sucrose particle surfaces was determined for each grinding method. It appeared that the step-like surface areas caused by e.g. impact milling exhibit a lower adhesiveness compared to the unstructured surface areas as a result of e.g. ball milling techniques. In contrast, the distribution of adhesion forces after roller milling showed a bimodal distribution with two distinct groups, one at lower and one at higher adhesion forces. This gave evidence of structured surface areas concealed under coarser elevations. After roller milling, less fat was immobilized while flow properties of the respective model suspension were positively affected as, i.e. lower yield value and equilibrium viscosity. These effects could not only be attributed to the reduction of particle size due to grinding. The results showed, therefore, that the polarity properties after roller mill refining have been modified in the way that these sucrose particles are more appropriate for the production of high quality chocolate than for example the particles produced by ball milling.

Furthermore, it was found that surface adhesion as well as surface topography is associated with the distribution of crystalline and amorphous regions on the sucrose surface. Although, amorphization of particle surfaces by grinding is already known, it has now been demonstrated for the first time that there are amorphous as well as crystalline regions present on the same particle surface area. These measurements were performed by local thermal analysis (LTA) via AFM. Thus, narrow regions with stronger adhesion force were found on ball milled sucrose, which could be correlated to a less structured surface topography. These surfaces were identified as amorphous regions by LTA. In the case of impact milled sucrose, small forces in a narrow distribution were correlated to sharply defined structures, which will most likely be crystalline areas.

In further experiments, these surfaces changed by grinding were covered with different emulsifiers. For these investigations, soy and sunflower lecithin (blend of different phospholipid fractions) as well as PGPR (higher molecular condensate of ricinoleic acid and glycerol) and citric acid esters with mono- and diglycerides of edible fatty acids were used. Covered and uncovered surface areas could be differentiated topographically by AFM. In the case of PGPR, this was achieved particularly well. There were droplet-shaped deposits that could be identified as complexes of PGPR and cocoa butter. Also, clear differences were observed by measuring the surface adhesions. Concerning this, it has to be emphasized that the distribution of adhesion forces after application of soy lecithin is broader than for sunflower lecithin covered particles. These differences were also reflected in the amount of immobilized fat which was less for soy lecithin. As expected, however, the layer thicknesses were comparable. Thus, it could be shown that soy lecithin is particularly well adapted to the sucrose surfaces of different polarity after grinding. A correlation of emulsifier adsorption to amorphous or crystalline surface areas could not be examined so far.

Furthermore, surface adhesion forces allowed conclusions on strength and homogeneity of emulsifier coverage. These conclusions have been confirmed by quantitative emulsifier analysis and the layer thickness estimations as well as the determination of macroscopic properties of the model suspensions; such as rheology and fat immobilization. Thus, the lowest amount of emulsifier was found on particle surfaces with PGPR. In comparison with the other emulsifiers adsorbing in much larger amounts, PGPR addition results in greatest layer thickness. These results indicate a different mode of function of these emulsifiers (see below).

However, for the interpretation and evaluation of these results it was important to consider that the emulsifiers are mixtures of components with large structural differences, and not well-defined substances. Therefore, some questions remain unanswered. Do the

observations change, for example, with the use of citric acid esters of higher citric acid content (increased polarity, different molecular weight) or the use of PGPR with an altered degree of condensation? Can the differences described for sunflower compared to soy lecithin application solely be referred to their different phospholipid compositions? Do the fatty acid distribution and the amount of unsaturated fatty acids have an effect on their adsorption behavior? What results can be obtained with lecithin from other sources such as e.g. rape?

Regardless of these questions, improved knowledge concerning function of lecithin with sucrose interfaces in lipophilic suspension was obtained. Based on topography images and adhesion force maps, it has been confirmed that adsorption of phosphatidylcholine mainly takes place on planar surfaces and not near step-like structures. This is most likely due to steric hindrance and polarity effects of free electron pairs of oxygen atoms at the sucrose surface. Furthermore, the study of diffusion-controlled adsorption processes showed that a dynamic equilibrium of adsorption and desorption of the PC molecules was reached.

In addition, the mode of function of PGPR could be further elucidated. As a high molecular condensate from ricinoleic acid and glycerol PGPR shows a strong interaction with cocoa butter, resulting in formation of pillow-like aggregates. These 'pillows' are indeed adsorbed to a relatively small extent on sucrose surface, but mainly affect the continuous phase. In this way, they provide a steric separation of the particles and prevent formation of supramolecular structures in the cocoa butter matrix. This allows that flow of the suspension can be easily induced. Since the particles are able to slide past each other very well and steric separation due to 'pillows' prevents particle aggregation, the viscosity of the total suspension and the yield value are correspondingly low.

Besides basic insights into the changes and amorphization of sucrose particle surfaces, further knowledge of PGPR's mode of function as well as of lecithin's adsorption behavior at molecular level were obtained. Furthermore, correlations promising a more practical use for the production of chocolate were elucidated. Against the background to replace soy lecithin produced from GMO by non-GMO emulsifiers, the interactions of these emulsifiers were also studied in mixtures. So, it was shown that a blend of 1/3 citric acid esters and 2/3 sunflower lecithin could adequately replace soy lecithin in chocolate. In addition, this blend was also as effective as those containing PGPR. Therefore, this is also the basis for the reduction of PGPR in chocolate manufacturing.

6 Material und Methoden

6.1 Rohstoffe

Saccharose

Zur Herstellung der lipophilen Suspensionen wurde Weißzucker fein, EG-Qualität II (Nordzucker, Braunschweig) verwendet. Für den Versuch an einem gebrochenen Kandiskristall (vgl. Kap. 3.1.1, Abb. 3.4) wurde Teezucker (Raffinade, Diamant, Pfeifer & Langen, Köln) verwendet. Zur genaueren Charakterisierung von Saccharose vgl. auch Kap. 1.3.

Kakaobutter

Die Kakaobutter wurde von der August Storck KG Halle, Westf. zur Verfügung gestellt. Die Hauptkomponenten in Bezug auf die Fettsäuren sind die in Tab. 6.1 aufgelistet und stimmen gut mit der Literatur überein [94].

Tab. 6.1: Charakterisierung der eingesetzten Kakaobutter hinsichtlich ausgewählter Parameter

Parameter	Verfahren	Anteil an Gesamtfettsäuren [%]
Palmitinsäure C 16:0	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	29,52
Stearinsäure C 18:0	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	33,54
Ölsäure C 18:1	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	31,48
Linolsäure C 18:2	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	2,95
Gesamtphospholipide	HPTLC nach Kap. 6.5.1	< 0,001 g/100g Kakaobutter

Lecithine

Für die Untersuchungen wurde ein standardisiertes Sojalecithin für den Einsatz in der Schokoladenindustrie („Chocotop“, zur Verfügung gestellt von Lindt & Sprüngli), sowie das Sonnenblumenlecithin „LeciStar S 100“ der Firma Sternchemie GmbH + Co. KG, Hamburg, verwendet. Auch dieses wurde als Muster zur Verfügung gestellt. Die Phospholipidzusammensetzung beider Lecithine ist in Tab. 1.1 angegeben. Die mittleren Molekulargewichte der Phospholipidfraktionen wurden zu 769 g/mol für Soja- und 734 g/mol für Sonnenblumenlecithin berechnet (vgl. Kap. 1.2.1).

Tab. 1.1: Zusammensetzung der für die Untersuchungen eingesetzten Lecithine (Chocotop analysiert durch SpectralService GmbH, Köln, LeciStar S 100 analysiert nach Kap. 6.5.1), siehe auch Kap. 1.2.1

Phospholipid-Fraktion	Gehalt in % (w/w)	
	Sojalecithin Chocotop	Sonnenblumenlecithin LeciStar S 100
PC - Phosphatidylcholin	14,30	12,97
PI - Phosphatidylinositol	11,62	4,27
PE - Phosphatidylethanolamin	7,99	15,06
PA - Phosphatidsäure	3,99	1,54
LPC - Lysophosphatidylcholin	0,81	2,79
LPE - Lysophosphatidylethanolamin	0,50	n.n.
Gesamtphospholipidgehalt des Lecithins bezogen auf die Hauptkomponenten	39,21	36,63
Nicht-Phospholipide	60,79	63,37

Polyglycerin-Polyricinolat (PGPR)

Das PGPR „PALSGAARD®4125“ ist ein kommerziell erhältliches Produkt und wurde zur Verfügung gestellt von der Palsgaard GmbH, Hannover. Die mittlere Molmasse des hochverzweigten und komplexen PGPR-Moleküls wurde in der Literatur mit 1200 - 2000 g/mol angegeben (vgl. auch Kap. 1.2.1 sowie [28,29]).

Zitronensäureester von Speisefettsäuren

Die eingesetzten, kommerziell erhältlichen Zitronensäureester „Grinsted Citrem LR 10 extra kosher“ wurden von der Firma Danisco, Dänemark, bezogen. Laut Herstellerangaben beträgt der Zitronensäuregehalt mindestens 13 %, die enzymatische Bestimmung gemäß Kap. 6.5.3 bestätigte diesen Wert. Die Fettsäureverteilung wurde gemäß Kap. 6.5.5 bestimmt und ist in Tab. 1.2 aufgeführt. Die mittlere Molmasse konnte zu 748 g/mol abgeschätzt werden (vgl. Kap. 1.2.1).

Tab. 1.2: Charakterisierung der Fettsäureverteilung von ZSE, angegeben sind nur die Hauptkomponenten > 1%, siehe auch Kap. 1.2.1

Parameter	Verfahren	Gehalt [g/100g ZSE]
Palmitinsäure C 16:0	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	4,8
Stearinsäure C 18:0	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	3,0
Ölsäure C 18:1	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	83,2
Linolsäure C 18:2	DIL770-11 (vgl. Kap. 6.5.5)	6,4
Summe Hauptfettsäuren		97,6
Summe weiterer Fettsäuren		2,6

6.2 Chemikalien

Aceton	A.R. TM 99,8 %	Lab-scan, Gliwice, Polen
Chloroform	ROTISOLV®, ≥ 99,9 %	Roth, Karlsruhe
Diethylether	A.R. TM 99,5 %.	LabScan, Gliwice, Polen
Essigsäure	p.a.	Applichem, Darmstadt
Ethylacetat	A.R. TM 99,8 %	LabScan, Gliwice, Polen
Glucose, α-d-(+)	wasserfrei	Applichem, Darmstadt
Hexan	A.R.TM 95 %.	LabScan, Gliwice, Polen
Kaliumchlorid	p.a.	Fluka, Steinheim
Kaliumhydroxid:	p.a.	Merck, Darmstadt
Kupfersulfat-Pentahydrat	p.a.	Sigma-Aldrich, Steinheim
Lithiumchlorid	reinst	Applichem, Darmstadt
Maltose-Monohydrat	kristallin	Merck, Darmstadt
Methanol	ROTISOLV®, ≥ 99,98 %	Roth, Karlsruhe
Natriumsulfat	wasserfrei	Fluka, Steinheim
Natriumchlorid	p.a.	Fluka, Steinheim
Mineralöl	niedrigviskos	Oil S 4919, Shell
n-Heptan	ROTISOLV®, ≥ 99%	Roth, Karlsruhe
n-Propanol	A.R.TM 99,5 %	LabScan, Gliwice, Polen
o-Phosphorsäure	85 %, p.a.	Applichem, Darmstadt
Saccharose	kristallin, wasserfrei	Caesar & Lorentz, Hilden
Salzsäure 0,5 M	p.a.	Merck, Darmstadt

6.3 Herstellung der Kakaobutter-Saccharose Modellsuspensionen

6.3.1 Herstellung ohne Zerkleinerung der Saccharose

Zur Herstellung der Modellsuspensionen wurde die Kakaobutter bei 45 °C im Wärmeschrank aufgeschmolzen. Bei den Suspensionen mit Emulgatorzusatz wurde dieser zuvor zu 0,5 % bezogen auf den Saccharosegehalt in die flüssige Kakaobutter eingewogen, mit einem Magnetrührer ($n = 500 \text{ min}^{-1}$) eingerührt und bei 70 °C vollständig in der Kakaobutter dispergiert.

Anschließend wurde die Saccharose bei 45 °C für 90 s mit dem Magnetrührer in die kontinuierliche Phase dispergiert ($n = 500 \text{ min}^{-1}$). Das Verhältnis von Saccharose zu Kakaobutter betrug hierbei 45 : 55 (w/w). Es wurde noch zwei weitere Male für 90 s nach jeweils 8 min Standzeit gerührt. Auf diese Weise wurde eine ausreichende räumliche Verteilung des Emulgators an die Feststoffoberflächen gewährleistet.

6.3.2 Herstellung mit Zerkleinerung der Saccharose

Bei den Suspensionen mit Emulgatorzusatz wurde dieser zuvor zu 0,5 % bezogen auf den Saccharosegehalt in die bei 45 °C aufgeschmolzene Kakaobutter eingewogen, mittels Magnetrührer verteilt ($n = 500 \text{ min}^{-1}$) und bei 70 °C vollständig dispergiert. Anschließend wurde die Saccharose auf drei verschiedene Arten in der kontinuierlichen Phase bei 45 °C zerkleinert, das Verhältnis von Saccharose zu Kakaobutter betrug ebenfalls 45 : 55 (w/w). Die Zerkleinerung erfolgte solange, bis ein mittlerer Partikeldurchmesser d_{50} von maximal 10 μm und ein maximaler Durchmesser d_{90} von 30 μm erreicht wurde. Die Partikelgrößen wurden nach jedem Zerkleinerungsdurchgang mit dem Laserbeugungsspektrometer Mastersizer 2000 geprüft (Kap. 6.4.1).

Die Zerkleinerung mit der Schlagmühle wurde mit einem Mixer für die Gastronomie der Firma BlendTec (Utah, USA) durchgeführt. Es wurden 500 g Suspension eingesetzt. Zur Vermeidung einer zu hohen Temperatur wurde intervallweise zerkleinert. Die Mühle wurde dazu auf Stufe 10 (1500 Watt) eingestellt und zunächst 2 min betrieben. Nach einer Wartezeit von 1 min wurde für weitere 5 min zerkleinert.

Mit der Kugelmühle (Wienerroto W-1-S, Wiener & Co., Amsterdam, Niederlande) wurde etwa 1 kg der Modellsuspension durch 10 kg Edelstahlkugeln des Durchmessers 1,5 cm ca. 20 min lang zerkleinert. Zudem wurden Kugeln mit einem Durchmesser von 0,8 cm getestet. Hier betrug die Zerkleinerungsdauer für 1 kg Suspension 25 min bei Einsatz

von 10 kg Kugeln, um die gewünschte Partikelgröße zu erreichen. Die Mühle wurde jeweils auf 45 °C temperiert und bei Stufe 7 von 10 betrieben (Motorleistung 0,75 kW).

Die Walzenzerkleinerung von etwa 1 kg Suspension wurde mit dem Laborwalzwerk WLDH 300 (Fa. Lehmann, Aalen) bei 40 °C und 50 bar vorgenommen. Da die Suspension mit einem Fettgehalt von 55 % für diese Zerkleinerungsart zu niedrigviskos war, wurde zunächst mit einem Fettgehalt von ca. 30 % gearbeitet. Nach Erreichen der gewünschten Partikelgröße wurde die Suspension dann auf einen Fettgehalt von 55 % mit Kakaobutter aufgefettet.

Aufgrund der aufwendigen Herstellung der Suspensionen und Analyse der Proben wurde für jede Art der Zerkleinerung und jeden Emulgator nur eine Suspension hergestellt. Bei den Versuchen mit Emulgatoreinsatz wurde jeweils nur die Kugelmühlengerkleinerung mit einem Kugeldurchmesser von 1,5 cm durchgeführt. Diese Art der Zerkleinerung wurde gewählt, da sie eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Suspensionsherstellung sowie der makroskopischen Bestimmungen ermöglicht (vgl. Tab. 6.2). Zudem wird der Kontakt der frischen Partikeloberfläche mit der Atmosphäre weitestgehend vermieden, was bei der Walzenzerkleinerung nicht immer der Fall ist.

Tab. 6.2: Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Kugelmühlengerkleinerung anhand der Auswertung der Partikelgrößenverteilung bestimmt nach Kap. 6.4.1, Berechnung der Standardabweichung aufgeführter Parameter

Kugelmühle Ø 1,5 cm	Spezifische Oberfläche in m ² /g Saccharose	Sauterdurch- messer der Saccharose- partikel in µm	Gleichgewichts- viskosität der Suspension in Pa s	Fließgrenze der Suspension in Pa	Immobilisiertes Fett in g/m ²
Suspension 1	1,96	3,06	0,31	1,29	0,33
Suspension 2	2,02	2,97	0,32	1,54	0,33
Suspension 3	1,85	3,25	0,34	1,18	0,30
Mittelwert	1,94	3,09	0,32	1,34	0,32
Standard- abweichung	0,09	0,14	0,02	0,18	0,01

Die zunächst relativ hoch erscheinende Standardabweichung für die Fließgrenze von über 10 % (vgl. Tab. 6.2) bezieht sich allerdings nicht nur auf die Messung selbst, sondern auch auf die Varianz bei Herstellung der Modellsuspension. Sie spiegelt z.B. eine durch den Zerkleinerungsprozess leicht abweichende Partikelgrößenverteilung in den Suspensionen wider, die nicht zu 100 % vergleichbar eingestellt werden konnte.

6.3.3 Mechanische Bearbeitung der Suspensionen (Conchieren)

Nach der Feinzerkleinerung (Kap. 6.3.2) wurden die Suspensionen entsprechend dem Herstellungsprozess von Schokolade conchiert. Dies erfolgte im Do-Corder Messkneteter S 300 H der Firma Brabender, Duisburg unter Zudosierung von vorgewärmter Luft (22 °C, 1500 L/h). Der temperierbare Mantel des Kneters wurde auf 75 °C erhitzt, die Rotationsgeschwindigkeit betrug 130 min^{-1} , die Conchierdauer wurde auf 4 h festgelegt.

6.4 Methoden zur Charakterisierung der Saccharosepartikel und deren Suspensionen

6.4.1 Partikelgrößenverteilung der Saccharose in den Suspensionen

Zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung wurde das Laserbeugungsspektrometer Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) eingesetzt. Es wurde eine Spatelspitze der bei 45 °C aufgeschmolzenen Suspension in etwas niedrigviskoses Mineralöl gegeben und 5 min mittels Ultraschallbad dispergiert. Es wurde eine Volumenverteilung der Partikelgrößen bestimmt. Die Größe eines gemessenen Partikels wird als Durchmesser der volumengleichen Kugel mit folgenden Kennwerten angegeben:

- d_{10} Die Partikel, die kleiner als dieser Durchmesser sind, ergeben 10 % des Gesamtvolumens.
- d_{50} Die Partikel, die kleiner als dieser Durchmesser sind, ergeben 50 % des Gesamtvolumens.
- d_{90} Die Partikel, die kleiner als dieser Durchmesser sind, ergeben 90 % des Gesamtvolumens.

Ein weiterer Parameter zur Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung ist die spezifische Grenzfläche. Sie stellt die Größe der Oberfläche für 1 g des suspendierten Feststoffes dar und wurde im Rahmen des Projektes aus der Partikelgrößenverteilung mit Hilfe der Gerätesoftware berechnet.

Bei Anwendung der Laserbeugungsspektrometrie zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung und der spezifischen Grenzfläche muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Auswertung auf Grundlage einer Kugelform bzw. einer annähernden Kugelform der zu charakterisierenden Partikel erfolgt. Je größer die Abweichung der Partikel von dieser Idealform, desto größer der Messfehler [95]. Die Abweichung der Messwerte wurde entsprechend Tab. 6.2 angegeben.

6.4.2 Bestimmung der Menge an immobilisiertem Fett an den Partikeloberflächen – Sedimentationsverhalten

Die Suspensionen wurden im Wärmeschrank bei 45 °C aufgeschmolzen, der Innenraum der Zentrifuge (RC-5-B, Sorvall, Bad Nauheim) wurde auf 35 °C vorgewärmt. Etwa 15 g der Suspension wurden auf 0,01 g genau in Kunststoffzentrifugenröhrchen eingewogen und anschließend für 10 min bei 5100 g zentrifugiert. Das Sediment war so fest, dass der Fettüberstand abdekantiert werden konnte. Der auf die Saccharosemenge bezogene, immobilisierte Fettanteil x_{IFS} ergibt sich nach folgender Gleichung:

$$x_{IFS} = (EW_{MS} \cdot 0,55 - m_{azF}) / (EW_{MS} \cdot 0,45) \quad (14)$$

mit: x_{IFS} immobilisierter Fettanteil [g Fett/g Saccharose]
 m_{azF} Menge an Überstand (abzentrifugierbares Fett) [g]
 EW_{MS} Einwaage Modellsuspension [g]

Mit diesem Anteil sowie der spezifischen Grenzfläche der Saccharosepartikel A_{sp} in m²/g Saccharose lässt sich auch die flächenbezogene Masse des immobilisierten Fettes m_{IFS} in g/m² berechnen

$$m_{IFS} = \frac{x_{IFS}}{A_{sp}} \quad (15)$$

mit m_{IFS} flächenbezogene Masse des immobilisierten Fettes [g/m²]
 A_{sp} spezifische Grenzfläche der Saccharose der conchierten Suspension [m²/g], wird aus der Partikelgrößenverteilung erhalten

Die Untersuchungen wurden mit jeweils vier Abfüllungen der Suspension durchgeführt. Die Abweichung der Messwerte wurde entsprechend Tab. 6.2 angegeben. Der abzentrifugierbare Fettanteil lag bei 45 – 55 % des eingesetzten Fetts und entsprach 3 – 4,5 g.

6.4.3 Bestimmung der Grenzflächenbelegung der Saccharosepartikel mit Emulgatoren

Aus der Differenz der Konzentrationen des Emulgators in der Kakaobutterphase vor Zugabe der Saccharose und in der abzentrifugierten Fettphase kann die verbleibende Emulgatormenge im immobilisierten Fett (= nicht abzentrifugierter Anteil, auf den Saccharoseoberflächen haftend und im Totvolumen zwischen den Saccharosepartikeln eingeschlossen) berechnet werden. Diese wird zur Abschätzung der Belegung der Saccharosegrenzfläche mit Emulgatoren herangezogen. Unter der Annahme, dass dieses immobilisierte Fett dieselbe Restkonzentration an Emulgator enthält wie die abgetrennte Fett-

phase und diese Restkonzentration auch als nicht adsorbiert betrachtet wird, errechnet sich die Grenzflächenbelegung in mg/m² nach:

$$m_{spB} = \frac{(c_E - c_N)}{(EW_{Sac} / EW_{KB}) \cdot A_{sp}} \quad (16)$$

mit:	m_{spB}	spezifische Belegung der Saccharosegrenzfläche [mg/m ²]
	c_E	Emulgatorkonzentration in der kontinuierlichen Phase vor Saccharosezugabe und Zerkleinerung [mg/g]
	c_N	Emulgatorkonzentration in der gemäß Kap. 6.4.2 nach Zerkleinerung und Conchieren der Suspension abgetrennten Kakaobutter [mg/g]
	EW_{Sac}	Einwaage an Saccharose zur Modellsuspension [g]
	EW_{KB}	Einwaage an Kakaobutter zur Modellsuspension [g]
	A_{sp}	spezifische Saccharosegrenzfläche [m ² /g] nach Zerkleinern mit Kugelmühle (Kugel-Ø 1,5 cm) und Conchieren, erhalten aus der Partikelgrößenverteilung

Für die Annahme der Gleichverteilung der Konzentrationen im immobilisierten sowie abzentrifugierten Fettanteil spricht die lange Kontaktzeit zwischen Kakaobutter, Emulgator und Saccharose bereits vor Beginn dieser Analyse. Unter den oben diskutierten Annahmen ergibt sich somit ein Wert, der die realen Konzentrationsverhältnisse in einer hohen Näherung relativ gut widerspiegelt.

Wiederfindungsversuche zeigten, dass mindestens 90 % des vor der Zerkleinerung eingewogenen Emulgators analytisch wiedergefunden wurden. Daher konnte die eingewogene Emulgatormenge als Grundlage zur Berechnung der Grenzflächenbelegung verwendet werden. Bei der Berechnung für die Phospholipide ist eine Korrektur der PL-Gehalte in Bezug auf die jeweiligen Anteile am gesamten Lecithin erforderlich (vgl. Tab. 6.2 in Kap. 6.1).

6.4.4 Herstellung der Saccharose durch Gefriertrocknung zur Untersuchung auf amorphe Eigenschaften

Amorphe Saccharose wurde nach Carstensen und Van Scoik [47] durch Eintropfen einer 15 %igen Saccharoselösung in Flüssigstickstoff und anschließender Gefriertrocknung hergestellt. Mittels DSC gemäß Kap. 6.4.7 wurde kontrolliert, ob die Saccharose amorph war (vgl. Abb. 8.6).

6.4.5 Rheologische Eigenschaften der Suspensionen

Die Fließeigenschaften der Modellsuspensionen wurden mit einem Rotationsrheometer AR 2000 der Firma TA Instruments bei einer Temperatur von 40 °C bestimmt. Als Messsystem wurde ein DIN-Zylindermesssystem mit einer Spaltbreite von 1 mm eingesetzt. Die Fließfunktion wurde in einem breiten Schergefällebereich von 200 s⁻¹ bis 0,1 s⁻¹ gemessen (vgl. Tab. 6.3).

Tab. 6.3: Messvorschrift für die rheologischen Untersuchungen an feinzerkleinerten Suspensionen

Scherrate (s ⁻¹)	Dauer (s)	Anzahl der Messpunkte
20	300	Vorscheren
0,1 → 200	300	67 Messpunkte
200 → 0,1	300	67 Messpunkte

Die Auswertung der Messungen erfolgte mit dem Programm RheoStar [56]. Dieses Programm ermittelt die Parameter der Regressionsfunktion, welche unter Berücksichtigung des Stoffsystems Schokolade nach dem Modell von Tscheuschner [57] erstellt wird:

$$\tau = \tau_0 + \eta_\infty \cdot \dot{\gamma}_r + \eta_{Str} \cdot \dot{\gamma}_{k,r}^{-n} \cdot \dot{\gamma}_r \quad (17)$$

Mit $\dot{\gamma}_r = \dot{\gamma} - \dot{\gamma}_{01}$ (18)

$$\dot{\gamma}_{k,r} = \frac{\dot{\gamma}_r}{\dot{\gamma}_1} \quad (19)$$

$$\eta_{Str} = \eta_{Str}(\dot{\gamma}_1) \quad (20)$$

τ_0 Fließgrenze, gemessen bei $\dot{\gamma}_{01} = 0,1 \text{ s}^{-1}$ (Pa)

η_{Str} strukturebedingte Viskosität (Pa·s)

η_∞ Gleichgewichtsviskosität bei $\dot{\gamma} > 200 \text{ s}^{-1}$ (Pa·s)

n Exponent des Strukturabbaus

$\dot{\gamma}_{01} = 0,1 \text{ s}^{-1}$ (Übergang vom Gleit- zum Fließvorgang für Schokolade)

$\dot{\gamma}_1 = 1,0 \text{ s}^{-1}$ (Dimensionskorrektur)

Anhand dieser Funktion wurden die Stoffwerte Fließgrenze τ_0 sowie Gleichgewichtsviskosität η_∞ berechnet. Als Fließgrenze τ_0 wurde die Scherspannung bei einem Schergefälle von 0,1 s⁻¹ (+/- 10 %) definiert. Der Wert für die Gleichgewichtsviskosität wurde entsprechend der Messvorschrift zur Ermittlung der Parameter des Tscheuschner-Modell-Schokostandards bestimmt [56,57].

Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Abweichung der Messwerte wurde entsprechend Tab. 6.2 angegeben.

6.4.6 Rasterkraftmikroskopie der Saccharoseoberflächen

Zur mikroskopischen Charakterisierung der Proben wurde das Rasterkraftmikroskop (MFP-3D™ SA, Asylum Research, Santa Barbara, Californien; USA) verwendet. Die Messung wurde, wenn nicht anders angegeben, mit Standard-Silizium-Spitzen (OMCL-AC-240TS-E3, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) eines Radius von ca. 7 nm durchgeführt, die auf einen Cantilever mit einer Federkonstanten von etwa 2 N/m angebracht waren. Die Resonanzfrequenz dieser Cantilever lag bei ca. 75 kHz.

Soweit nicht anders angegeben, wurde in einer Atmosphäre aus Stickstoff bei einer Luftfeuchtigkeit zwischen 5 und 15 % rH gemessen. Diese Werte wurde aus Gründen der Reproduzierbarkeit der Adhäsivitäten gewählt (vgl. dazu Kap. 1.5.3 sowie Abb. 1.22). Die Luftfeuchtigkeit kann mit Hilfe von Schrauben an einer Verschlussklammer der flüssigkeits- sowie gasdichten Messzelle in diesen Grenzen grob reguliert werden (Abb. 6.1, Closed Fluid Cell, Accessory for MFP-3D™). Mit Hilfe eines Sensors, der von der Firma Asylum Research für orientierende Vorversuche zur Verfügung gestellt wurde, konnte dies überprüft werden (vgl. Kap. 6.4.6.4 sowie Abb. 6.2, HumiditySensingCell for MFP-3D™). In die Verschlussmembran ist der Cantileverhalter mit Cantilever eingebaut, so dass die Messspitze trotz verschlossener Zelle oberhalb der Probenoberfläche positioniert werden kann. Einbau der Probe und Verschließen der Zelle wurden in einer Stickstoffatmosphäre durchgeführt. In die geschlossene Zelle wurde zudem der Stickstoff durch eine seitliche Zuführung über eine gasdichte Spritze (Hamilton gastight #1050, Hamilton Co., Reno, Nevada) injiziert. Die Proben wurden auf einer Glimmerscheibe (Plano GmbH, Wetzlar, G250-6) präpariert.

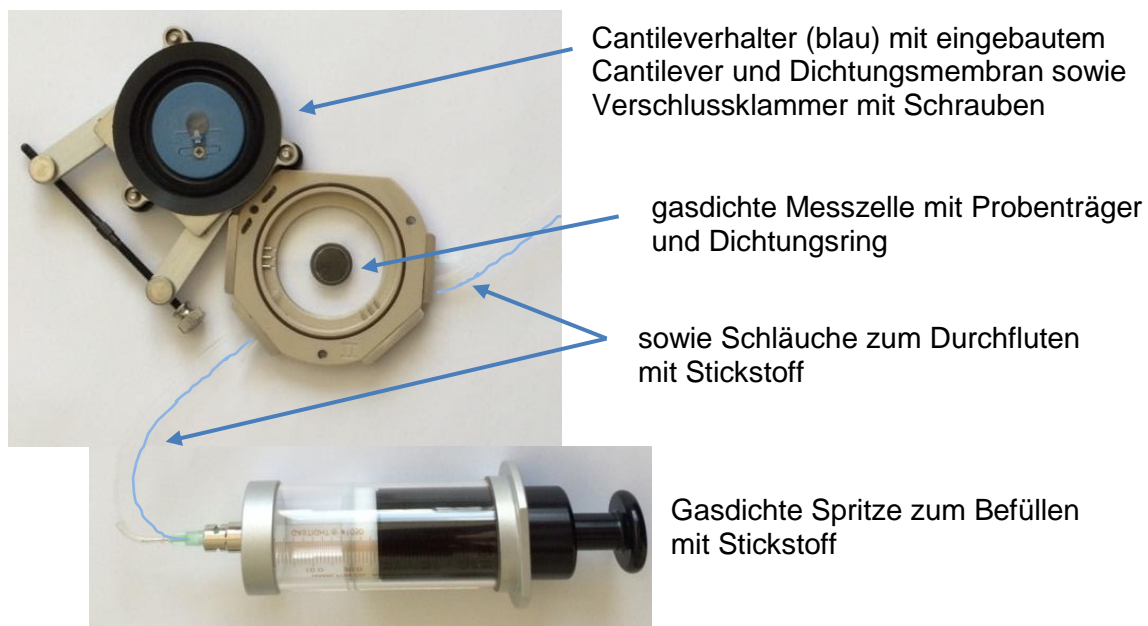


Abb. 6.1: Versuchsaufbau zur Messung an Stickstoffatmosphäre, Closed Fluid Cell

6.4.6.1 Probenvorbereitung für die Bestimmung von Oberflächeneigenschaften der Saccharosepartikel aus den Modellsuspensionen

Zunächst wurde die Saccharose aus den Modellsuspensionen abzentrifugiert (Biofuge primo, Fa. Heraeus, 45 °C, 5100 g, 10 min), die Fettphase abdekantiert und die Saccharosepartikel mit Hexan solange gewaschen, bis sie nach Trocknung im Exsiccator unter Stickstoff pulverförmig waren. Die Saccharosepartikel aus den mit Emulgator versetzten Modellsuspensionen wurden mit Aceton statt mit Hexan gewaschen.

Die Fixierung der Saccharosepartikel für die AFM-Messung erfolgte in beiden Fällen nach der Methode der Zwei-Stufen-Präparation von Neuner (Anwenderkit, Plano GmbH, Wetzlar, G3305A) unter Stickstoffatmosphäre. Dazu wurde eine dünne Schicht einer Mischung aus Baumharz in Propanol auf eine Glimmer-Scheibe aufgetragen. Nach kurzer Zeit des Antrocknens wurde die Saccharose zur Vereinzelung der Partikel durch ein Mikrometersieb mit 90 µm Maschenweite aufgestreut und die Scheibe anschließend zur Fixierung ca. vier Minuten in Propanoldampf gelegt. Eine DSC-Messung zeigte, dass der amorphe Zustand durch den Propanoldampf nicht beeinflusst wurde (vgl. Abb. 8.8). Anschließend wurden nicht fixierte Partikel vorsichtig und zügig mit einem feinen Haarpinsel entfernt. Bis zur Messung wurde die Probe im Exsiccator unter Stickstoff gelagert.

6.4.6.2 Bestimmung der Oberflächentopographie unter Stickstoffatmosphäre

Die Bestimmung der Oberflächentopographie im Oszillationsmodus (AC Mode) wurde mit folgenden Parametern durchgeführt:

ScanSize:	2 µm
ScanRate:	0,6 und 0,8 Hz
Amplitude:	1,00 V (Cantilever Tune)

Pro Suspension wurden mindestens 30 Saccharosepartikel analysiert. Pro Partikel wurden zwei Oberflächentopographien auf unterschiedlichen Oberflächenbereichen aufgenommen.

6.4.6.3 Bestimmung der Adhäsivität unter Stickstoffatmosphäre

Die Bestimmungen der Adhäsivitäten zwischen der Spitze und der Probenoberfläche (mit und ohne Emulgatorbelegung) wurden im Kontakt Modus durchgeführt. Wie in Kap. 1.5.3 näher beschrieben, wurden hierzu die notwendigen Parameter wie die Federkonstante mit Hilfe der AFM Software von Asylum Research Version 13.04.77 mit der Programmierplattform Igor Pro 6.34A (WaveMetrics, Lake Oswego, Oregon, USA) für jeden

verwendeten Cantilever bestimmt [62] und bei der Auswertung berücksichtigt. Für die Messungen wurden folgende Parameter standardmäßig festgelegt:

Scan Size der ForceMaps:	2 μm mit 60 x 60 Bestimmungen
XY Velocity:	2,00 $\mu\text{m/s}$
ForceDistance:	1 μm
TriggerPoint:	1,00 V im contact mode

Mit diesen Parametern wurden dann pro Saccharosepartikel je zwei Kraftkarten mit 60 x 60 Datenpunkten auf unterschiedlichen Oberflächenbereichen einer Größe von 2 x 2 μm aufgenommen. Pro Suspension wurden wenigstens 30 Saccharosepartikel analysiert.

Die Auswertung der Kraftkarten wurde mit Microsoft Excel 2010 vorgenommen. Dazu wurde die Datenmatrix der AFM Software aus der Messung der Kraftkarte konvertiert, um in ein Exceldatenblatt eingefügt werden zu können. Dann wurde der Klassenbereich für die Histogrammanalyse festgelegt: für unbelegte Saccharosepartikel wurde eine Darstellung über einen Bereich von 0 - 50 nN, für belegte Saccharosepartikel eine Darstellung über 0 - 100 bzw. 150 nN in Schritten von 2 nN gewählt. Anschließend wurde pro Datenblatt und Kraftkarte ein Histogramm berechnet. Zur Darstellung in Form von Säulendiagrammen wurden nur Häufigkeiten größer als 20 bezogen auf die Gesamtanzahl der Messungen berücksichtigt (bei 60 x 60 Kurven = 3600 Werte). Der Abstand zweier Messpunkte beträgt bei einer Kantenlänge der Karte von 1 μm somit ca. 17 nm.

Die gemessenen Adhäsivitätswerte könnten unter Umständen stark von einer Veränderung des Spitzendurchmessers aufgrund von Abnutzung während der Messung beeinflusst werden (vgl. Kap. 1.5.3). Da die Abnutzung einer neuen, unbenutzten Spitze während der ersten Messungen am stärksten ist, wurde jede Spitze vor den Adhäsivitätsmessungen zur Topographiebestimmung verwendet. Eine Langzeitmessung mit einer solchen Spitze auf ein und derselben Probenoberfläche zeigte exemplarisch, dass die Spitzenabnutzung und die damit verbundene Veränderung der Spitzengeometrie unter den gegebenen Bedingungen vernachlässigbar ist (vgl. Abb. 8.4 und Abb. 8.5 auf S. 132).

6.4.6.4 Versuche zur Rekristallisation amorpher Oberflächen

Vorversuch zur Beeinflussung der Adhäsivität durch Luftfeuchtigkeit

Für diese Versuche wurde eine spezielle AFM-Messzelle verwendet, die von der Firma Asylum Research zur Verfügung gestellt wurde. Mit einer eingebrachten Salzlösung kann die Luftfeuchtigkeit in der Zelle genau eingestellt und über die AFM-Software überwacht werden (vgl. Abb. 6.2, HumiditySensingCell for MFP-3DTM).

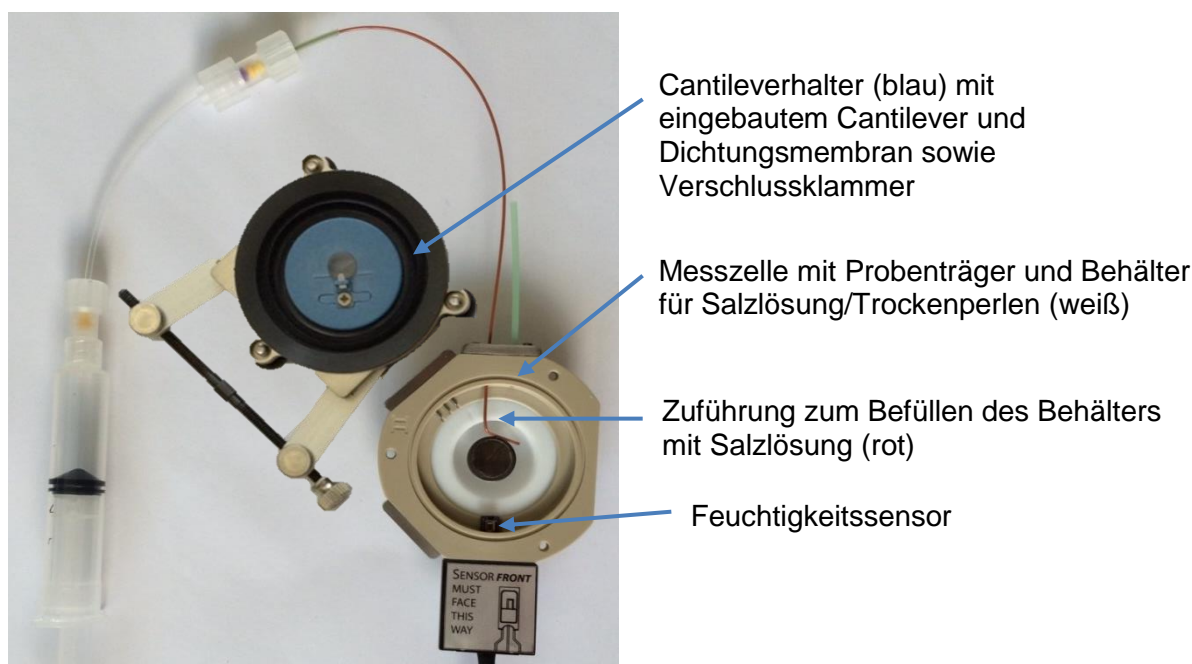


Abb. 6.2: Versuchsaufbau zur Messung an kontrollierter Umgebungsfeuchte, Humidity Sensing Cell

Die Luftfeuchtigkeiten wurden wie folgt eingestellt:

- ca. 3,5 % rH: Zellvolumen mit Trockenperlen (orange, schwermetallfrei, Fluka, Steinheim) füllen, Zelle mit einem magnetischen Metallring verschließen, nicht verschrauben, etwa 5 – 10 min Wartezeit bis Luftfeuchtigkeit entsprechend reduziert ist
- ca. 11 % rH: 3 - 4 mL gesättigte LiCl-Lösung einfüllen, Zelle gasdicht verschrauben, etwa 10 min Wartezeit bis Feuchtigkeit eingestellt ist
- ca. 45 % rH (Raumluftfeuchtigkeit): Zelle ohne Dichtung verwenden
- ca. 75 % rH: 3 - 4 mL gesättigte NaCl-Lösung einfüllen, Zelle gasdicht verschrauben, etwa 20 min Wartezeit bis Feuchte eingestellt ist

Um den Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Kraftmessungen zu verdeutlichen, wurden pro Feuchteinstellung je 10 Kraft-Abstands-Kurven in Doppelbestimmung auf einer frisch mit Klebeband abgezogenen Glimmeroberfläche gemessen. Dazu wurde zunächst die Salzlösung bzw. die Trockenperlen in die Zelle eingebracht und anschließend die Probe darüber positioniert. Die Zelle wurde dann entsprechend der gewünschten Luftfeuchte wie oben beschrieben verschlossen und die Kurven aufgenommen. Die Parameter wurden analog Kap. 6.4.6.3 gewählt, die Auswertung erfolgte mit der AFM-Software.

Oberflächenveränderung amorpher Saccharose durch Luftfeuchtigkeit

Für die Bestimmung wurde die gemäß Kap. 6.4.4 hergestellte, amorphe Saccharose verwendet. Diese wurde wie unter Kap. 6.4.6.1 beschrieben für die Messung fixiert und gemäß Kap. 6.4.6.2 bei einer Luftfeuchtigkeit von 11 % rH (LiCl-Lösung, s.o.) mit dem AFM charakterisiert. Anschließend wurde die in der Messzelle vorhandene LiCl-Lösung mit einer Spritze abgezogen und durch NaCl-Lösung ersetzt, ohne die Zelle aus dem AFM auszubauen. Die Probe wurde dann über einen Zeitraum von 12 h unangetastet belassen und anschließend erneut topographisch charakterisiert. Dazu konnte die Luftfeuchtigkeit jedoch nicht wieder auf den Wert von 11 % rH reduziert werden. Die Probe hätte aus der Messzelle ausgebaut und diese vollständig gereinigt werden müssen. Daher wurde lediglich die Verschraubung der Zelle gelöst, die NaCl-Lösung abgesaugt und ca. 1 h gewartet, bis sich eine möglichst niedrige Luftfeuchtigkeit einstellte. Bei ca. 50 % rH wurde dann die Topographie analog Kap. 6.4.6.2 erneut bestimmt.

6.4.6.5 Bestimmung der Oberflächentopographie unter flüssiger Kakaobutter

Etwa 20 g Teezucker wurden in zwei ineinander liegende, handelsübliche Gefrierbeutel gefüllt und mit ca. 100 mL auf 50 °C temperierter Kakaobutter überschichtet. Die Beutel wurden gut verschlossen und die Zuckerkristalle mit einem Hammer zerkleinert.

Anschließend wurde die Kakaobutter unter Stickstoffatmosphäre über Dekantieren von der Saccharose abgetrennt. Um die Partikel für die AFM fixieren zu können, mussten zurückbleibende, anhaftende Kakaobutterreste außerdem noch mit Hexan von den Oberflächen heruntergewaschen werden. Anschließend konnten die Partikel nach Trocknen mit schnell härtendem Zweikomponentenkleber (RS 553-614, RS Components, Northants, UK) auf einer Glimmerscheibe befestigt werden. Die Scheibe wurde ebenfalls unter Stickstoffatmosphäre in einer CoolerHeater Stage (50 °C, Accessory for MFP-3D™, Asylum Research) positioniert und mit 3 mL flüssiger Kakaobutter (50 °C) überschichtet.

Die Bestimmung der Oberflächentopographie wurde im Oszillationsmodus (AC Mode) vorgenommen. Dazu musste zunächst die Resonanzfrequenz (~ 8 kHz) aus dem thermischen Spektrum in flüssiger Kakaobutter bestimmt werden. Auf diese Frequenz wurde manuell der Cantilevertune durchgeführt. Die Scangröße betrug 1 µm, die ScanRate betrug 0,6 Hz.

6.4.6.6 Diffusionsgesteuerte Anlagerungskinetik in flüssiger Kakaobutter

Die Vorbereitung dieser Versuche erfolgte gemäß Kap. 6.4.6.4. Die Oberflächentopographie vor Adsorption des Emulgators wurde ebenfalls bei den dort genannten Parametern charakterisiert, allerdings wurde der zu untersuchende Bildausschnitt auf 10 μm vergrößert. Für die Bestimmung der Adhäsivität wird wie unter Kap. 6.4.6.3 beschrieben vorgegangen. Die Federkonstante wurde an Luft bestimmt, die Messung selbst fand unter flüssiger Kakaobutter statt.

Zur Bestimmung der Anlagerung des PC wurde dieses als Gemisch aus Kakaobutter und PC hinzugegeben. Aufgrund des begrenzten Volumens der CoolerHeater Stage mussten zunächst 2 mL der Kakaobutter abgenommen werden. 1 mL der verbleibenden Kakaobutter diente dazu, das Saccharosebruchstück weiterhin von Luftfeuchtigkeit abzuschirmen. Erst dann wurde die PC-Konzentration in der Messzelle auf 0,61 % (w/v) PC bezogen auf Kakaobutter eingestellt (entspricht 0,5 % bezogen auf Saccharose). Dazu wurden 0,018 g PC in 2 mL flüssige Kakaobutter (45 °C) eingewogen und bei 70 °C mittels eines Magnetrührers ($n = 500 \text{ min}^{-1}$) vollständig in der Kakaobutter dispergiert. Dann wurde dieses Gemisch zu der in der CoolerHeater Stage verbliebenen Kakaobuttermenge von 1 mL hinzugegeben. Anschließend wurden gemäß Kap. 6.4.6.3 Kraftkarten über einer Fläche von 10 x 10 μm auf ein und demselben Oberflächenbereich mit einer Anzahl von 60 x 60 Datenpunkten aufgenommen. Dadurch ergab sich ein zeitlicher Abstand von 15 min zwischen den einzelnen Karten. Nach einer Laufzeit von 13,5 h wurde die Messung gestoppt und jede Kraftkarte wie bereits unter Kap. 6.4.6.3 beschrieben ausgewertet. Der gesamte Versuch wurde zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit zweimal wiederholt.

6.4.6.7 Lokale Thermische Analyse

Zur Bestimmung der Glasübergangs- und Schmelztemperaturen muss zunächst eine Korrelation zwischen dem Widerstand der AFM-Spitze (dotiertes Silicium) und der Temperatur hergestellt werden. Diese Korrelation wird für jede neu verwendete Spitze sowie jeweils tagesaktuell ermittelt [66]. Zur Kalibration der Spitze wurden Saccharide unterschiedlicher Schmelzpunkte verwendet. Im Gegensatz zu den zur Kalibration mitgelieferten Polymeren sind diese sowohl in ihren chemischen als auch physikalischen Eigenschaften den zu untersuchenden Saccharoseoberflächen deutlich ähnlicher. Es wurden verwendet:

- Amorphe Saccharose hergestellt nach [47] aus einer Lösung kristalliner Saccharose (s.u.), mit einer ermittelten Glasübergangtemperatur von 57 °C
- Maltose-Monohydrat mit einem Schmelzpunkt von 119 °C

- Glucose, wasserfrei, mit einem Schmelzpunkt von 157 °C
- Saccharose, wasserfrei, mit einem Schmelzpunkt von 192 °C

Die Phasenübergänge der Standardsubstanzen wurden gemäß Kap. 6.4.7 mittels DSC in Doppelbestimmung ermittelt (siehe Kap. 8.3 im Anhang ab S. 132). Da es sich beim Glasübergang um einen Temperaturbereich handelt, wurde für amorphe Saccharose ein Mittelwert aus vier Messungen gebildet (vgl. Abb. 8.6 bis Abb. 8.9). Mit Hilfe des Festigkeitsprüfstandes Zwick, UPM (Zwick GmbH & Co. KG, Ulm) wurden die Saccharide bei einer Temperatur von 100 °C und einem Druck von 95,5 MPa für eine Minute zu Tabletten gepresst. Zur Messung mittels AFM wurden folgende Parameter vorgegeben:

Spitze	AN2-200 ThermoLever
Spannungsrampe	1 V/s
Trigger	10 nm
Setpoint	500 mV
Atmosphäre	trockener Stickstoff

Die Standardabweichung der Phasenübergangstemperaturen der Probenoberfläche wurde wie folgt bestimmt: Die Standardabweichung des Widerstandes aus der Messung des Saccharosestandards (11,9 Ω) wurde zu den Widerstandswerten aus der Messung der Probenoberfläche addiert und die Abweichung zur Phasenübergangstemperatur aus der Kalibriergerade ermittelt. Es ergab sich eine Abweichung von 7 °C.

6.4.7 Thermische Analyse mittels DSC

Zur Bestimmung der Glasübergangs- und Schmelztemperaturen wurde eine DSC-Analyse mit dem Gerät MDSC 2920 der Firma TA Instruments durchgeführt. Ca. 5-10 mg Probe wurden in 40 μ L Standard-Aluminiumtiegel (Mettler Toledo, ME-26763) eingewogen und hermetisch verschlossen. Die DSC-Messung wurde mit einer Heizrate von 5 K/min in einem Temperaturbereich von 50 bis 200 °C als Doppelbestimmung durchgeführt. Als Referenz diente ein leerer Tiegel (vgl. Kap. 8.3 im Anhang ab S. 133).

6.4.8 Abschätzung der Schichtdicke aus der plastischen Deformation der Oberfläche

Wie unter Kap. 3.2.2.6 näher erläutert, wird die Emulgatorschichtdicke durch die plastische Deformation der Probenoberfläche beschrieben. Zur Bestimmung der plastischen Deformation wurden die nach Kap. 6.4.6.3 erstellten Kraftkarten nun erneut in Bezug auf ihre plastische Deformation ausgewertet. So entsteht eine der Kraftkarte analoge, bildliche Darstellung. Für die Auswertung wurden 3 repräsentative Kraft-Karten je Probe bzw. Emulgator ausgewählt. Dies geschah anhand von Topographiebildern, die eine

Emulgatorbelegung erkennen ließen und ebenfalls zur Excel-Auswertung im Rahmen der Adhäsivitätsbestimmung herangezogen wurden.

Zur Mittelwertbildung der Schichtdicke einer Karte wurden nur die Oberflächenbereiche ausgewertet, die auch tatsächlich mit Emulgator belegt waren und demnach eine plastische Deformation aufwiesen. Dazu wurden die entsprechenden Bildbereiche mit Hilfe der AFM-Software über eine Maske separiert. Diese blendete diejenigen Messpunkte aus, deren Auswertung eine plastische Deformation von weniger als 15 nm ergeben hat (Blindwert inklusive Messunsicherheit auf einer unbelegten Oberfläche; bestimmt auf mittels Schlagmühle zerkleinerten Partikeln, vgl. auch Abb. 3.34). Anschließend wurde der Mittelwert der plastischen Deformation bestimmt. Daraus ergibt sich der Wert für die Dicke der Emulgatorschicht.

6.5 Chemisch-analytische Bestimmungen

Zur quantitativen Bestimmung der grenzflächenaktiven Substanzen wurde die lipophile Phase der Modellsuspensionen untersucht. Dazu wurden die Suspensionen im Wärmeschrank bei 45 °C zunächst aufgeschmolzen. Etwa 70 g der Suspension wurde dann in Kunststoffzentrifugenröhrchen für 10 min bei 5100 g zentrifugiert, der Innenraum der Zentrifuge (RC-5-B, Fa.Sorvall, Bad Nauheim) wurde auf 35 °C erwärmt. Aus dem Überstand wurden dann die Emulgatorgehalte bestimmt. Alle Quantifizierungen wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Das verwendete Reinstwasser wurde mit Hilfe eines Reinstwassersystems MilliQ, Reagent Grade Water System, Millipore, Merck, Darmstadt aufbereitet.

6.5.1 Bestimmung des Gehaltes an Phospholipiden

Die Bestimmung der Phospholipide (PL) wurde unter Leitung von Herrn Dr. Juadjur durchgeführt. Sie erfolgte als Dreifachbestimmung in Anlehnung an [97] nach Zentrifugation der Saccharose-Kakaobutter-Suspensionen direkt aus der lipophilen Phase. Dazu wurden zunächst 1,5 g lipophile Phase mit 12,5 mL Chloroform/Methanol (2/1, v/v) versetzt und gut durchmischt. 1 mL dieser organischen Phase wurde in ein Vial überführt, unter Stickstoff bis zur Trockne eingeeengt und in 0,5 mL Chloroform aufgenommen. Die Chloroformphase wurde dann auf eine vorher mit 20 mL Chloroform konditionierte Normalphase Silica Kartusche aufgebracht (LiChrolut Si 60, 500 mg; Merck, Darmstadt). Die Trennung in Neutrallipide erfolgte durch Elution mit 20 mL Chloroform, die Glycolipide wurden mit 5 mL Aceton abgetrennt und die Phospholipide wurden mit 20 mL Methanol eluiert. Diese Methanolfraktion mit den Phospholipiden wurde unter

Stickstoff bei 45 °C bis zur Trockne eingeengt, in 1 mL Chloroform gelöst, für die Analytik in ein Vial überführt und dieses bis zur Messung bei -70 °C gelagert.

Die dünnschichtchromatographische Analyse der Verteilung der Phospholipidfraktionen wurde in Anlehnung an [98] mit HPTLC-Platten durchgeführt (Kieselgel G60, 20x10cm, Merck, Darmstadt). Als Fließmittel diente Ethylacetat / Chloroform / n-Propanol / Methanol / 0,25 %ige wässrige Kaliumchloridlösung (25/25/25/13/9, v/v/v/v/v). 5 µL des Phospholipidextraktes in den Verdünnungen 1:5 und 1:50 sowie 5 µL der Standardlösungen in fünf unterschiedlichen Konzentrationen im Bereich von 10 bis 250 µg/mL wurden unter Verwendung eines Linomat 5 auf die Platten aufgesprüht (Camag, Berlin).

Zur Herstellung des Detektionsmittels wurden 25,8 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ in 400 mL Wasser gelöst, unter Rühren 80,4 g 85%ige α -Phosphorsäure zugegeben und auf 500 mL aufgefüllt. Das Detektionsmittel wurde über eine Tauchvorrichtung auf die Platten gebracht (Camag, Berlin, Tauchgeschwindigkeit Stufe 2, Verweildauer Stufe 2). Zur Entwicklung der Spots wurde die Platte 10 Minuten auf 180 °C erhitzt. Es zeigten sich hell- bis dunkelbraune Spots.

Die Quantifizierung erfolgte mit Hilfe des Scanners TLC 3 (Camag, Berlin) bei einer Wellenlänge von 700 nm, wobei auf Basis der für die einzelnen Substanzen erhaltenen Peakflächen quantifiziert wurden. Die Kalibrierung der einzelnen Phospholipide erfolgte aufgrund der Nichtlinearität mittels einer quadratischen Funktion, die aus der Konzentrationsreihe der jeweiligen Standards ermittelt wurde. Die Messunsicherheit betrug 10 %.

Phospholipidstandards ($\geq 99\%$) wurden von der Fa. Avanti polar lipids, Alabama, USA, bezogen. Es wurden die aus Soja isolierten Phospholipide Phosphatidylcholin und Lyso-phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylinositol sowie die aus Ei isolierten Substanzen Lyso-Phosphatidylethanolamin und Phosphatidsäure verwendet (s. auch Kap. 1.2.1).

6.5.2 Bestimmung des Gehaltes an Polyglycerin-Polyricinolat

Aufgrund der geringen Probenanzahl wurde die quantitative Bestimmung von PGPR in der lipophilen Phase von einem externen Labor (Institut für Qualitätsförderung in der Süßwarenwirtschaft, IQ.Köln) über eine hochauflösende Gaschromatographie durchgeführt. Dazu wurde der Ricinolsäuregehalt bestimmt und unter Annahme, dass das eingesetzte PGPR einen handelsüblichen Gehalt von ca. 80 % Ricinolsäure ausweist, der Gehalt an PGPR errechnet. Die Nachweisgrenze betrug 0,01 g/100g, die Bestimmungsgrenze 0,03 g/100g.

Um die Richtigkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurde eine Kontrollprobe mit bekanntem PGPR-Gehalt in Kakaobutter mitgeschickt. Für eine Einwaage von 0,507 g PGPR in Kakaobutter wurde ein Wert von 0,60 g PGPR /100 g ermittelt. Dies entspricht einer Abweichung von etwa 18 %. Diese wurde als Standardabweichung festgelegt.

6.5.3 Bestimmung des Gehaltes an Zitronensäureestern mit Mono- und Diglyceriden von Speisefettsäure

Die Bestimmung der Zitronensäureester (ZSE) wurde unter Leitung von Herrn Dr. Juadjur durchgeführt. Um Matrixeffekte und Verluste auszugleichen, wurde die Standardadditionsmethode gewählt, welche auch die vorherige Anreicherung mittels Festphasenextraktion berücksichtigt. Für die Standardaddition wurde derselbe ZSE verwendet, der auch den Modellsuspensionen zugesetzt wurde. Die ZSE wurden dann enzymatisch über die daraus freigesetzte Zitronensäure detektiert.

Zunächst wurde eine Standardlösung aus 1 g ZSE in 10 mL Chloroform/Methanol (2:1, v/v) für die Kalibriergerade mittels Standardaddition hergestellt. Dann wurden je 5,00 g der lipophilen Phase in fünf 100 mL Messkolben eingewogen und folgende Volumina der Standardlösung hinzugefügt (siehe Tab. 6.4).

Tab. 6.4: Schema zum Ansetzen der Kalibriergeraden für die Zitronensäureester-Bestimmung in der abzentrifugierten Lipidphase der Saccharose-Kakaobutter-Suspensionen mit ZSE-Zusatz von 1g/10 mL Chloroform / Methanol (2:1, v/v)

Menge lipophile Phase [g]	Menge ZSE Standardlösung [μ L]	Entspricht ZSE [mg]
5,00	0	0
5,00	25	2,5
5,00	50	5,0
5,00	75	7,5
5,00	100	10,0

Anschließend wird der Messkolben mit Hexan auf 100 ml aufgefüllt, gut geschüttelt und 5 min ins Ultraschallbad gestellt.

Anreicherung und Reinigung der Zitronensäureester durch Festphasenextraktion

Die Lösungen wurden jeweils auf eine mit Hexan vorkonditionierte SPE-Kartusche (Strata NH2 55 μ m 70A 500mg/3mL, Maximalbeladung 25 mg, Geschwindigkeit max. 5 mL/min) gegeben und die Messkolben mit 3 mL Hexan nachgespült. Weitere 17 mL Hexan wurden zum Spülen der Säule verwendet. Dabei wurde die gesamte aus der Säule austretende Lösung verworfen (vgl. Abb. 6.3, Eluat A).

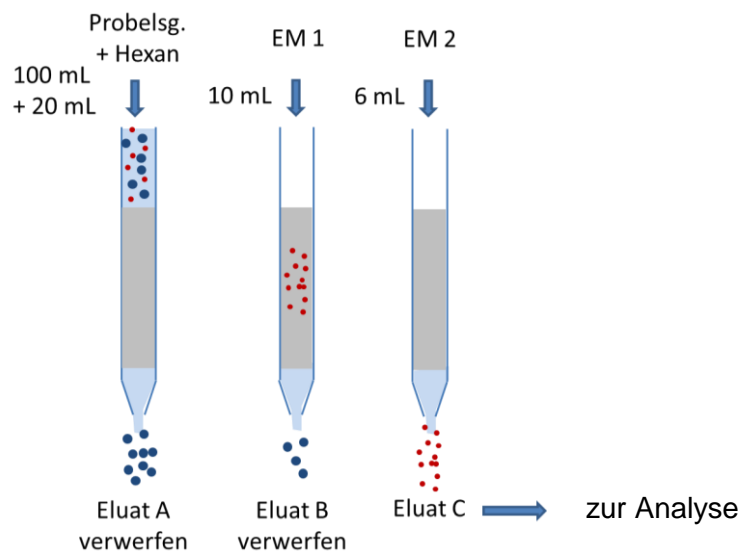


Abb. 6.3: Schema der Festphasenextraktion, EM = Elutionsmittel, Erläuterungen im Text

Anschließend wurden die lipophilen Bestandteile der Probe mit 10 mL Hexan / Essigsäureethylester 95/5 eluiert und diese Phase wiederum verworfen (Eluat B). Die auf der Säule adsorbierten ZSE wurden mit 6 mL Chloroform/Methanol 1/2 in gewogene Pyrex®-Röhrchen eluiert (Eluat C) und bis zur Massenkonzanz unter Stickstoff abgeblasen.

Dünnschichtchromatographische Kontrolle der Eluate

Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde zur Kontrolle der ZSE-Verteilung in den einzelnen Fraktionen eine Dünnschichtchromatographie (DC) aller Eluate durchgeführt (siehe Kap. 8.5 im Anhang auf S.141). Dazu wurden die im Stickstoffstrom vom Lösungsmittel befreiten Eluate in 5 mL Chloroform aufgenommen und je 5 µL für die Bestimmung mittels DC (Kieselgel G60, 20x10cm, Merck, Darmstadt) eingesetzt. Die DC-Platte wurde dann in einer gesättigten Kammer mit Hexan / Diethylether / Essigsäure (70+30+1) entwickelt. Die Detektion erfolgte analog der PL-Bestimmung (vgl. Kap. 6.5.1). Als Kontrollstandards wurden eine Lösung aus Zitronensäureester in Chloroform sowie eine aus Kakaobutter in Chloroform (beide 5 %ig, w/v) eingesetzt. Außerdem wurde die Fettsäuren C18:2 sowie ein Gemisch aus 1 % ZSE in Kakaobutter ebenfalls als 5 %ige Lösung in Chloroform mit aufgetragen (vgl. Kap. 8.5 im Anhang auf S.141).

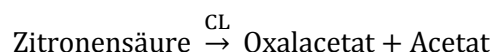
Vorbereitung der enzymatischen Detektion über die freigesetzte Zitronensäure

Die unter Stickstoff getrockneten Eluate C, die die ZSE enthalten, wurden mit 2,5 mL einer 1 M methanolischen KOH versetzt, um die Ester zu verseifen. Anschließend wurden die Pyrex®-Röhrchen fest verschlossen und die Reaktion 25 min im Schüttelwasserbad bei 70 °C durchgeführt. Nach dem Abkühlen der Röhrchen wurde mit 0,5 mL Salz-

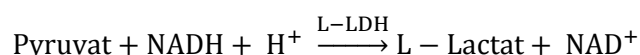
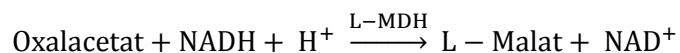
säure (5 M) schwach angesäuert (pH 4). Anschließend wurden die Proben 5 min bei 5100 g zentrifugiert, um die Seifen von der zitronensäurehaltigen Lösung abzutrennen. Der Überstand wurde jeweils in einen 10 mL Messkolben abdekantiert. Der Rückstand wurde dreimal mit 2 mL Reinstwasser nachgespült, ebenfalls zentrifugiert und abdekantiert. Anschließend wurden die Messkolben ebenfalls mit Reinstwasser auf 10 mL aufgefüllt. Falls noch Reste von Ausflockungen (Seifenreste) vorhanden waren, wurden diese beim Auffüllen über den Eichstrich des Messkolbens gebracht. Dann wurden die Lösungen gut geschüttelt und vor der enzymatischen Bestimmung (Kit Nr. 10 139 076 035, R-Biopharm, Boehringer Mannheim) mit einem Spritzenvorsatzfilter filtriert (Chromafil Pet 45/25, 0,45 µm, REF 729020100, MACHEREY-NAGEL).

Enzymatische Detektion der ZSE über die freigesetzte Zitronensäure

Die Bestimmung wurde wie im Testkit beschrieben durchgeführt. Die freigesetzte Zitronensäure wird in der durch das Enzym Citrat-Lyase (CL) katalysierten Reaktion in Oxalacetat und Acetat überführt:



In Gegenwart der Enzyme L-Malat-Dehydrogenase (L-MDH) und L-Lactat-Dehydrogenase (L-LDH) werden Oxalacetat und dessen Decarboxylierungs-Produkt Pyruvat durch reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) zu L-Malat bzw. L-Lactat reduziert:



Die Summe der während der letzten beiden Reaktionen verbrauchten NADH-Mengen ist der Zitrat-Menge äquivalent. NADH ist Messgröße und wurde aufgrund seiner Absorption bei 340 nm bestimmt. Die Testdurchführung erfolgte wie im Beipackzettel des Kits beschrieben.

Bei den gemessenen Extinktionsdifferenzen wurde darauf geachtet, dass diese zur Erzielung eines ausreichend präzisen Ergebnisses mindestens 0,100 Extinktionseinheiten betrug. Dies wurde bereits bei der Kalibration über Standardaddition berücksichtigt. Zur Überprüfung des Testkits wurde bei jeder Bestimmungsreihe die mitgelieferte Testkontrolllösung parallel untersucht. Die prozentuale Abweichung betrug 2,5 %. Außerdem wurden zwei Wiederfindungsversuche von ZSE in Kakaobutter durchgeführt. Die Wiederfindung lag bei 102 %.

6.5.4 Untersuchung der Grenzschicht auf den Saccharosepartikeln

Zur Untersuchung des Kakaobuttergehaltes in der Grenzschicht wurde die Saccharose zunächst analog Kap. 6.4.2 aus den Suspensionen abzentrifugiert. Genau 20 g der abgetrennten Saccharose wurden dann solange mit Aceton gewaschen, bis die getrockneten Rückstände (Exsiccator mit Stickstoff) pulverförmig waren und denen der Präparation für die AFM entsprachen. Dieser Rückstand wurde dreimal mit je 20 mL Chloroform / Hexan (50/50, v/v) extrahiert, um die verbleibende Grenzschicht abzutrennen. Alle Extrakte wurden vereinigt und am Rotationsverdampfer in einem für 2 h bei 100 °C vorgetrockneten und ausgewogenen Rundkolben eingengt (vgl. Abb. 6.4).

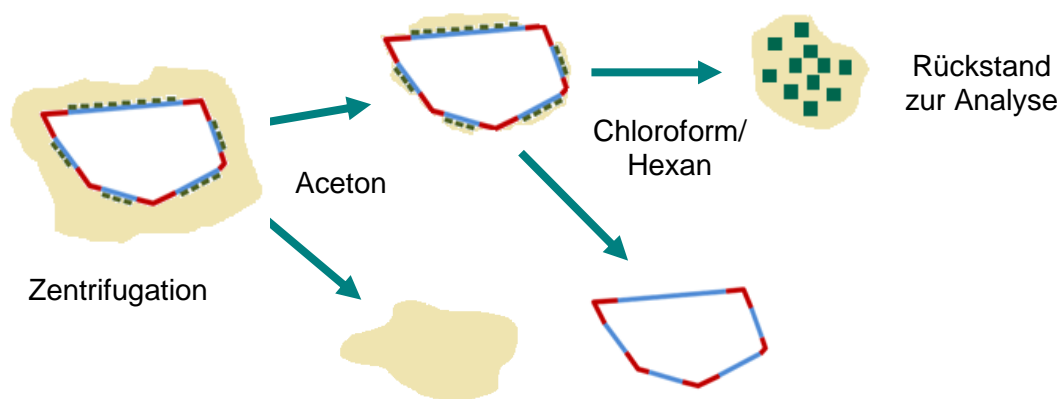


Abb. 6.4: Schema zur Abtrennung der Grenzschicht von den Saccharosepartikeln, hellgelb = Kakaobutter, rot/blau = Saccharosepartikel mit unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften, grüne Quader = adsorbierte Emulgatormoleküle

Zur Analyse wurde die Probe in 10 mL n-Heptan aufgenommen und auf Stearinsäure (C18:0) aus der Kakaobutter untersucht. Als interner Standard wurde Tripalmitin (C16:0) verwendet. Zur Bestimmung wurde eine 6-Punkt Kalibration vorgenommen, die gemäß Tab. 6.5 mit Gemischen aus den angegebenen Lösungen durchgeführt wurde:

Lösung A = 5 mg Kakaobutter / mL Heptan

Lösung B = 5 mg Tripalmitin / mL Chloroform

Tab. 6.5: Schema zum Ansetzen der Kalibriergeraden für die Kakaobutter-Bestimmung in der Grenzschicht der Saccharosepartikel

Menge Lösung A [mL]	Entspricht Menge Kakaobutter [mg]	Menge Heptan [mL]	Menge Lösung B [mL] entspricht 25 mg Tripalmitin
0	0	5	5
1	5	4	5
2	10	3	5
3	15	2	5
4	20	1	5
5	25	0	5

Die Probenkonzentration betrug 10 mg/mL bei einem Gesamtvolumen von 10 mL für die Doppelbestimmung, also 2 x 5 mL (entspricht 2 x 50 mg Probe). Pro Bestimmung wurden 5 mL Probe mit 5 mL Lösung B als internem Standard versetzt. Sämtliche Lösungen wurden nun analog Kap. 6.5.5 im Hinblick auf die Verhältnisse Stearinsäure zu Palmitinsäure untersucht (GC Bedingungen und Standardsubstanzen siehe Kap. 6.5.5).

6.5.5 Bestimmung der Fettsäureverteilung

Zur Bestimmung der prozentualen Fettsäurezusammensetzung der Kakaobutter und der Zitronensäureester wurde eine Bestimmung in der internen analytischen Abteilung in Auftrag gegeben. Dazu wurden zunächst die Glyceride in Fettsäuremethylester überführt. Anschließend fand eine gaschromatographische Trennung statt, die Detektion erfolgt mittels Flammenionisationsdetektor. Die interne DIL-Prüfvorschrift wird gemäß der DGF-Einheitmethode zur Herstellung von Fettsäuremethylestern zum Zwecke gaschromatographischer Untersuchungen (DGF C-VI 11d (98) [96], nach DIN-EN-ISO 5509:1997) durchgeführt.

Ca. 30-50 mg gut homogenisierte, evtl. aufgeschmolzene Probe, wurden in einem Reagenzglasröhrchen mit Schliff in 10 mL n-Heptan gelöst und mit 300 µL methanolischer Kaliumhydroxidlösung (13,2 g KOH + 100 mL Methanol) versetzt. Das Röhrchen wurde verschlossen und ca. 30 s auf dem Vortexmischer geschüttelt. Nach dem Absetzen des freigesetzten Glycerins wurde ein Teil des klaren Überstandes in ein zweites Röhrchen überführt und mit ca. 3 g wasserfreiem Natriumsulfat für ca. 20 min getrocknet. 2 µL der überstehenden klaren Lösung wurden direkt in den Gaschromatographen eingespritzt. Die Fettsäuremethylester der Probe wurden anhand ihrer Retentionszeiten im Vergleich mit entsprechenden Methylestern der Standardsubstanzen identifiziert. Die Bestimmung der Fettsäureverteilung erfolgte über die Verhältnisse der Peakflächen.

Lipidstandards waren entsprechende Methylester abgefüllt in Ampullen zu je 20 mg: Caprylsäure (C8), Caprinsäure (C10), Laurinsäure (C12), Myristinsäure (C14), Myristoleinsäure (C14:1), Palmitinsäure (C16), Palmitoleinsäure (C16:1), Margarinsäure (C17), Stearinsäure (C18), Ölsäure (C18:1), Linolsäure (C18:2), Linolensäure (C18:3), Arachinsäure (C20), Eicosensäure (C20:1), Eicosadiensäure (C20:2), Eicosatriensäure (C20:3), Arachidonsäure (C20:4), Behensäure (C22), Erucasäure (C22:1), Docosahexaensäure (C22:6), Lignocerinsäure (C24) und Nervensäure (C24:1). Die Standardsubstanzen (analytical standard) wurden von der Fa. Fluka, Steinheim, bezogen.

Die geöffneten Ampullen wurden über Nacht in einem 50 mL Schraubglas, welches ca. 20 mL n-Heptan enthielt, eingelegt. Am nächsten Tag wurde mit n-Heptan quantitativ in einen 50 mL Kolben überführt und zur Marke aufgefüllt.

Gaschromatographie

Gerät:	HP 5890
Säule:	Agilent HP 88, 60 m, Filmdicke 0,2 µm, 0,25 mm ID
Trärgas:	Helium, 1,5 mL/min
Säulenvordruck:	1,25 bar
Luft:	2,9-3 bar
Wasserstoff:	1,1 bar
Ofentemperatur	195 °C
Injektion:	250 °C, 2 µL, Split 1:20
Detektor:	FID, 260 °C
Software:	Empower
Messdauer je Lauf:	50 min

Die Bestimmung wurde mit folgendem Temperaturprogramm durchgeführt: 195 °C für 25 min, dann mit 20 °C/min auf 220 °C, Haltetemperatur 26 min.

Die Auswertung erfolgte über die Peakflächen. Eine Flächenkorrektur für die molare Response (nach ECR-Konzept) wurde nicht vorgenommen, da die gefundenen Fettsäuren in einem engen Kettenlängenbereich (hauptsächlich C16 und C18, s. Tab. 6.1) lagen und die Diskriminierung der Fettsäurezusammensetzung daher gering ist.

7 Literatur

- [1] Weipert, D.; Tscheuschner, H.-D.; Windhab, E., Rheologie der Lebensmittel. Behr's Verlag: Hamburg **1993**, 431-470.
- [2] Afoakwa, E. O.; Paterson, A.; Fowler, M., Factors Influencing Rheological and Textural Qualities in Chocolate – A Review. *Trends Food Sci. Technol.* **2007**, 18, 290–298.
- [3] Löser, U.; Tscheuschner, H.-D.; Herstellung von Tafelschokolade. In *Grundzüge der Lebensmitteltechnik*, Behr's Verlag: Hamburg **2004**, 456–475.
- [4] Kuster, W., Das Zweistufen-Walzen von Schokolade. *Lebensmittelindustrie* **1999**, 4, 8–9.
- [5] Bolenz, S.; Holm, M.; Langkrär, C., Improving Particle Size Distribution and Flow Properties of Milk Chocolate Produced by Ball Mill and Blending. *Eur. Food Res. Technol.* **2014**, 238, 139–147.
- [6] Niediek, E. A., Effect of Processing on the Physical State and Aroma Sorption Properties of Carbohydrates. *Food Tech* **1988**, 11, 80–85.
- [7] Beckett, S., Chocolate Ingredients. In *The Science of Chocolate*, The Royal Society of Chemistry: Cambridge **2000**, 8–30.
- [8] Beckett, S., Liquid Chocolate Making. In *The Science of Chocolate*, The Royal Society of Chemistry: Cambridge **2000**, 49–65.
- [9] Beckett, S., Industrial chocolate manufacture and use. John Wiley & Sons: New York **2009**.
- [10] Becker, U., Physikochemische Grenzflächeneinflüsse auf das Fließverhalten von Suspensionen. Universität Dortmund, Dissertation, **1984**.
- [11] Beckett, S., Controlling the Flow Properties of Liquid Chocolate. In *The Science of Chocolate*, The Royal Society of Chemistry: Cambridge **2000**, 66–84.
- [12] Koglin, B., Agglomeration and Dispersion in Suspensions. *Ger. Chem. Eng.* **1978**, 252–258.
- [13] Barthelmes, G.; Buggisch, H., Modellierung von Grenzschichteneinflüssen auf die Rheologie agglomerierender Suspensionen. *Chemie Ing. Tech. - CIT* **1999**, 71, 468–472.
- [14] Windhab, E., Fluid Immobilization - A Structure-related Key Mechanism for the Viscous Flow Behavior of Concentrated Suspension Systems. *Appl. Rheol.* **2000**, 10, 134–144.
- [15] Johansson, D.; Bergenstahl, B., The Influence of Food Emulsifiers on Fat and Sugar Dispersions in Oils. I. Adsorption, Sedimentation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, 69, 705–717.
- [16] Johansson, D.; Bergenstahl, B., The Influence of Food Emulsifiers on Fat and Sugar Dispersions in Oils. II. Rheology, Colloidal Forces. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, 69, 718–727.

- [17] Arnold, G.; Schuldt, S.; Schneider, Y.; Friedrichs, J.; Babick, F.; Werner, C.; Rohm, H., The impact of Lecithin on Rheology, Sedimentation and Particle Interactions in Oil-based Dispersions. *Colloid Surface A*, **2013**, 418, 147–156.
- [18] Ghorbel, D.; Saïdi, I.; Ben Slema, M.; Gharsallah, M., Adjusting Flow Properties of Molten Milk Chocolate By Means of Emulsifiers and Fat. *J. Food Process Eng.* **2011**, 34, 317–331.
- [19] Heinz, V.; Franke, K., Untersuchung zur Wirkung von grenzflächenaktiven Substanzen in konzentrierten lipophilen Süßwarensuspensionen am Beispiel von Schokoladenmasse. Aif 15217 N, **2009**, Forschungsbericht, Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V., Quakenbrück.
- [20] Franke, K.; Bindrich, U., Influence of Solid Particle Surface Properties on Adsorption of Surface Active Components in Lipophilic Suspensions. *5th International Symposium on Food Rheology and Structure*, **2009**.
- [21] Schmitt, H.; Lecithin: der Emulgator in der Schokoladenindustrie. *Zucker-und Süßwaren-Wirtschaft*, **1995**, 95, 310–312.
- [22] Franke, K.; Heinzelmann, K.; Tscheuschner, H.-D., Einfluss von Feuchte und Emulgator auf Struktur und Rheologie von Zucker-Kakaobutter-Dispersionen nach der Feinvermahlung. *Chemie Ing. Tech.* **2002**, 74, 1633–1636.
- [23] Svanberg, L.; Ahrné, L.; Lorén, N.; Windhab, E., Effect of Sugar, Cocoa Particles and Lecithin on Cocoa butter Crystallisation in Seeded and Non-seeded Chocolate Model Systems. *J. Food Eng.* **2011**, 104, 70–80.
- [24] Zuliani Stroppa, V. L.; Badan Ribeiro, A. P.; Luccas, V.; Grimaldi, R.; Guaraldo Goncalves, L. A.; Kieckbusch, T. G., Influence of Soy Lecithin and PGPR Levels in Chocolate Crystallization Behavior. *The 11th International Congress of Engineering and Food (ICEF)* **2011**.
- [25] Chevalley, J., Chocolate Flow Properties. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use*, **1999** Blackwell Science: Oxford, 182–200.
- [26] Rector, D.; Chocolate - Controlling the Flow. *Manuf. Confect.*, **2000**, 80, 63-70.
- [27] Minifie, B.W., Chocolate, Cocoa and Confectionary: Science and Technology. Chapman & Hall: New York, **1989**.
- [28] Orfanakis, A.; Hatzakis, E.; Kanaki, K.; Pergantis, S. A.; Rizos, A.; Dais, P., Characterization of Polyglycerol Polyricinoleate Formulations Using NMR Spectroscopy, Mass Spectrometry and Dynamic Light Scattering. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2013**, 9039–51.
- [29] Bastida-Rodríguez, J., The Food Additive Polyglycerol Polyricinoleate (E-476): Structure, Applications, and Production Methods. *ISRN Chem. Eng.* **2013**, 1 -21.
- [30] Linke, L.; Schieberle, P.; Köhler, P., Zusammenhänge zwischen Struktur und funktionellen Eigenschaften von Emulgatoren zur Schokoladenherstellung. Aif 11794, **2001**, Forschungsbericht, Technische Universität Dresden und Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie.

- [31] Schantz, B.; Rohm, H., Influence of Lecithin–PGPR blends on the Rheological Properties of Chocolate. *LWT-Food Sci. Technol.* **2005**, 38, 41–45.
- [32] Hasenhuettl, G. L., Overview of Food Emulsifiers. In *Food Emulsifiers and Their Application*, Springer Verlag: New York **2008**, 1-9.
- [33] Schantz, B.; Linke, L.; Setrdle, A.; Köhler, P., Wirkung handelsüblicher Emulgatoren auf die rheologischen Eigenschaften von flüssigen Schokoladenmassen, Teil 1: Die theoretischen Grundlagen der Untersuchung. *Zucker-und Süßwarenwirtschaft*, **2001**, 54, 30–32.
- [34] Griffin, W., Classification of Surface-active Agents by HLB. *J Soc Cosmet. Chem.* **1946**, 311-326.
- [35] Dörfler, H.-D., Chemischer Aufbau, Eigenschaften und spezielle Anwendungen von Tensiden. In *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*, Springer Verlag: Heidelberg **2002**, 329-372.
- [36] Tscheuschner, H.-D.; Finke, A., Rheologischen Eigenschaften von Kakaobutter und ihren Dispersionen mit Kakaofeststoff und Zucker, Teil II: Kakaobutter-Kakaofeststoff-Dispersionen. *Zucker-und Süßwarenwirtschaft*, **1988**, 41, 354–259.
- [37] Rousset, P.; Sellappan, P.; Daoud, P., Effect of Emulsifiers on Surface Properties of Sucrose by Inverse Gas Chromatography. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 969, 97–101.
- [38] Vernier, F. C., Influence of Emulsifiers on the Rheology of Chocolate and Suspensions of Cocoa or Sugar Particles in Oil. Universität Reading, Dissertation, **1997**.
- [39] Dedinaite, A.; Campbell, B., Interactions between Mica Surfaces across Triglyceride Solution Containing Phospholipid and Polyglycerol Polyricinoleate. *Langmuir*, **2000**, 16, 2248–2253.
- [40] Vollhardt, K. P. C.; Schore, N. E., Kohlenhydrate - Polyfunktionelle Naturstoffe. In *Organische Chemie*, Wiley-VCH: Weinheim **2005**, 1257–1314.
- [41] Aquilano, D.; Franchini-Angela, M.; Rubbo, M.; Mantovani, G.; Vaccari, G., Growth and Morphology of Polar Crystals: A Comparison Between Theory and Experiment in Sucrose. *J. Cryst. Growth*, **1983**, 61, 369–376.
- [42] Beevers, C. A.; McDonald, T. R. R.; Robertson, J. H.; Stern, F., The Crystal Structure of Sucrose. *Acta Crystallogr.* **1952**, 5, 689–690.
- [43] Campaña Cué, C.; Ruiz Salvador, A. R.; Aguilera Morales, S.; Falcon Rodriguez, F. L.; Pérez González, P., Raffinose–sucrose Crystal Interaction Modelling. *J. Cryst. Growth*, **2001**, 231, 280–289.
- [44] Sgualdino, G.; Aquilano, D.; Vaccari, G.; Mantovani, G.; Salamone, A., Growth morphology of sucrose crystals: The Role of Glucose and Fructose as Habit-modifiers. *J. Cryst. Growth*, **1998**, 192, 290–299.
- [45] Saska, M.; Myerson, A., The Theoretical Shape of Sucrose Crystals from Energy Calculations. *J. Cryst. Growth*, **1983**, 61, 546–555.

- [46] Roth, D., Amorphisierung bei der Zerkleinerung und Rekristallisation als Ursachen der Agglomeration von Puderzucker und Verfahren zu deren Vermeidung. Universität Karlsruhe, Dissertation, **1976**.
- [47] Carstensen, J.; Van Scoik, K., Amorphous-to-crystalline Transformation of Sucrose. *Pharm. Res.* **1990**, 7, 1278–1281.
- [48] Roos, Y.; Karel, M., Phase Transitions of Amorphous Sucrose and Frozen Sucrose Solutions. *J. Food Sci.*, **1991**, 56, 266–267.
- [49] Roos, Y., Melting and Glass Transitions of Low Molecular Weight Carbohydrates. *Carbohydr. Res.* **1993**, 238, 39–48.
- [50] Mathlouthi, M.; Amorphous Sugar. In *Sucrose - Properties and Application*,. Blackie Academic and Professional: Glasgow, **1995**, 75–100.
- [51] Van Scoik, K.; Carstensen, J., Nucleation Phenomena in Amorphous Sucrose Systems. *Int. J. Pharm.* **1990**, 58, 185–196.
- [52] Weipert, D.; Tscheuschner, H.-D.; Windhab, E., Rheologie der Lebensmittel. Behr's Verlag: Hamburg **1993**, 173-218
- [53] Figura, L. O.; Teixeira, A. A., Rheological Properties. In *Food Physics*, Springer Verlag: Belrin, **2007**, pp. 117–206.
- [54] Tscheuschner, H.-D., Rheologie der Lebensmittel. In *Grundzüge der Lebensmitteltechnik*, Behr's Verlag: Hamburg, **2008**, 151–203.
- [55] Aeschlimann, J.; Beckett, S., International Inter-Laboratory Trials to Determine the Factors Affecting the Measurement of Chocolate Viscosity. *J. Texture Stud.* **2000**, 31, 541–576.
- [56] Franke, K.; Tscheuschner, H.-D., Auswertung rheologischer Messungen. *Suesswaren*, **1995**, 39, 44–47.
- [57] Tscheuschner, H.-D., Rheologische Verarbeitungseigenschaften flüssiger Schokolade. *Appl. Rheol.* **1994**, 4, 83–88.
- [58] Binnig, G.; Quate, C.; Gerber, C., Atomic force microscope. *Phys. Rev. Lett.* **1986**, 56, 930–933.
- [59] Sharma, B. G.; Basu, S.; Sharma, M. M., Characterization of Adsorbed Ionic Surfactants on a Mica Substrate. *Langmuir*, **1996**, 12, 6506–6512.
- [60] Eaton, P.; West, P., *Atomic Force Microscopy*. Oxford University Press: Oxford **2010**.
- [61] Morris, V.; Kirby, A.; Gunning, A., *Atomic force microscopy for biologists*. Imperial College Press: London **2010**.
- [62] Butt, H.-J.; Cappella, B.; Kappl, M., Force Measurements with the Atomic Force Microscope: Technique, Interpretation and Applications. *Surf. Sci. Rep.* **2005**, 59, 1–152.
- [63] Handojo, A.; Zhai, Y.; Frankel, G.; Pascall, M., Measurement of Adhesion Strenghts between Various Milk Products on Glass Surfaces Using Contact Angle Measurement and Atomic Force Microscopy. *J. Food Eng.* **2009**, 92, 305–311.

- [64] Meyer, G.; Amer, N. M., Novel Optical Approach to Atomic Force Microscopy. *Appl. Phys. Lett.* **1988**, 53, 1045.
- [65] Alexander, S.; Hellemans, L.; Marti, O.; Schneir, J.; Elings, V.; Hansma, P. K.; Longmire, M.; Gurley, J., An Atomic-resolution Atomic-Force Microscope Implemented Using an Optical Lever. *J. Appl. Phys.* **1989**, 65, 164-167.
- [66] Fischinger, T. J.; Laher, M.; Hild, S., An Evaluation of Local Thermal Analysis of Polymers on the Sub-micrometer Scale Using Heated Scanning Probe Microscopy Cantilevers. *J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 5570–5576.
- [67] Harding, L.; Reading, M.; Craig, D. Q. M., The Development of Heated Tip Force – Distance Measurements as a Novel Approach to Site-Specific Characterization of Pharmaceutical Materials. *J. Pharm. Sci.* **2008**, 97, 2768–2779.
- [68] King, W. P.; Kenny, T. W.; Goodson, K. E.; Member, A.; Cross, G. L. W.; Despont, M.; Dürig, U. T.; Rothuizen, H.; Binnig, G.; Vettiger, P., Design of Atomic Force Microscope Cantilevers for Combined Thermomechanical Writing and Thermal Reading in Array Operation. *J. Microelectromech. Syst.* **2002**, 11, 765–774.
- [69] King, W. P.; Bhatia, B.; Felts, J. R.; Kim, H. J.; Kwon, B., Heated Atomic Force Microscope Cantilevers and their Applications. *Annu. Rev. Heat Transf.* **2013**, 16, 287–326.
- [70] Weyland, M.; Hartel, R., Emulsifiers in Confectionery. In *Food Emulsifiers and Their Application*, Springer Verlag: Berlin **2008**, 285–305.
- [71] Arnold, G.; Könk, U.; Böhme, B.; Rohm, H., Lecithine verschiedener Herkunft in Schokolade. *Süßwaren* **2012**, 5, 15–17.
- [72] Transgen.de, Futter für Europas Nutztiere: In der Regel mit gentechnisch veränderten Sojabohnen. <http://www.transgen.de/lebensmittel/einkauf/1095.doku.html>, zuletzt aufgerufen am 06.11.2014.
- [73] Niediek, E.; Differences in Properties between the Crystalline and Amorphous Forms of Sucrose and Lactose. *ZFL, Intern. Z. Leb. Verfahrenstech*, **1982**, 3, 173–185.
- [74] Windhab, E.; Untersuchungen zum rheologischen Verhalten konzentrierter Suspensionen. Technische Universität Karlsruhe, Dissertation, **1986**.
- [75] Ruprecht, K., Minimierung der Geruchsintensität von Saccharosekristallen über technologische Maßnahmen - Ergebnisse und Auswertung. Technische Universität Berlin, Dissertation, **2005**.
- [76] van der Hoek, B.; van der Eerden, J. P.; Bennema, P., Thermodynamical Stability for the Occurrence of Hollow Cores Caused by Stress of Line and Planar Defects. **1982**, 56, 621–632.
- [77] Meschede, D., Festkörperphysik. In *Gerthsen Physik*, Springer Verlag: Berlin **2006**, 883–967.
- [78] Braun, P., From Coarse to Smooth - A Review of Grinding Technologies. *Manuf. Confect.* **2010**, 78–86.

- [80] Harding, L.; King, W. P.; Dai, X.; Craig, D. Q. M.; Reading, M., Nanoscale Characterisation and Imaging of Partially Amorphous Materials Using Local Thermomechanical Analysis and Heated Tip AFM. *Pharm. Res.* **2007**, 24, 2048–2054.
- [81] Dai, X.; Reading, M.; Craig, D. Q. M., Mapping Amorphous Material on a Partially Crystalline Surface : Nanothermal Analysis for Simultaneous Characterisation and Imaging of Lactose Compacts. *J. Pharm. Sci.* **2009**, 98, 1499–1510.
- [82] Scheruhn, E., Einfluß ausgewählter Milchpulvercharakteristika auf die rheologischen Eigenschaften von kakaobutterhaltigen Suspensionen vom Typ Milchsokolade. Technische Universität Berlin, Dissertation, **2000**.
- [83] Scheruhn, E.; Tscheuschner, H.-D., Einfluß der Milchpulverarten und deren physikochemischen Eigenschaften auf die Rheologie von milchpulverhaltigen Schokoladenmassen,” In *ZDS-Seminar “Milchpulver für die Süßwarenindustrie,”* **1999**.
- [84] Scheruhn, E.; Tscheuschner, H.-D., Einfluss der Milchpulverart auf die Fließeigenschaften von Schokolade sowie analytische Charakterisierung des Milchpulvers. Forschungsbericht, Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V., Quakenbrück, **1999**.
- [85] Mongia, G.; Ziegler, G. R., The Role of Particle Size Distribution of Suspended Solids in Defining the Flow Properties of Milk Chocolate. *Int. J. Food Prop.* **2000**, 3, 137–147.
- [86] Butt, H.-J., Controlling the Flow of suspensions. *Sci.* 2011, 331, 868–869.
- [87] Middendorf, D.; Franke, K.; Bindrich, U.; Heinz, V., New Insights Into the Differences between Ball Mill and Roller Mill Refining for Chocolate Manufacturing. SweetVision, Manuskript akzeptiert, **2015**.
- [88] Gloria, H.; Sievert, D., Changes in the Physical State of Sucrose During Dark Chocolate Processing. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 2433–2436.
- [89] Immel, S.; Computer Simulation of Chemical and Biological Properties of Saccharides: Sucrose, Fructose, Cyclodextrins, and Starch. Technische Universität Darmstadt, Dissertation, **1995**, 51-88.
- [90] Immel, S., Computer Simulation of Chemical and Biological Properties of Saccharides: Sucrose, Fructose, Cyclodextrins, and Starch. Technische Universität Darmstadt, Dissertation, **1995**, 1-14.
- [91] Buxmann, W., Untersuchungen zur Veränderung der Eigelbmatrix bezüglich der technologischen Eigenschaften durch Behandlung mit Phospholipasen. Rheinische Friedrich-Willhelm-Universität Bonn, Dissertation, **2007**.
- [92] Arnold, G.; Schade, E.; Schneider, Y.; Friedrichs, J.; Babick, F.; Werner, C.; Rohm, H., Influence of Individual Phospholipids on the Physical Properties of Oil-Based Suspensions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2013**, 91, 71–77.
- [93] Middendorf, D.; Juadur, A.; Bindrich, U.; Mischnick, P., AFM Approach to Study the Function of PGPR's Emulsifying Properties in Cocoa Butter Based Suspensions. *Food Struct.* **2014**, 10.1016/j.foostr.2014.11.003, im Druck.

- [94] Souci, S. W.; Fachmann, W.; Kraut, H., Die Zusammensetzung der Lebensmittel. www.sfk-online.net/cgi-bin/sfkstart.mysql?language=german, Stichwort Kakaobutter, zuletzt aufgerufen am 13.01.**2015**.
- [95] Bindrich, U., Physiko-chemische Grundlagen disperser Lebensmittelstoffe - Ausgewählte Messmethoden. In *Grundzüge der Lebensmitteltechnik*, Behr's Verlag: Hamburg **2008**, 116–150.
- [96] DGF-Einheitsmethoden, Fettsäuremethylester (Alkalische Umesterung) C-VI 11 d (98). Wissenschaftl. Verlagsges. Stuttgart.
- [97] Descalzo, A. M. ; Insani, E. M.; Pensel, N. A.; Light-scattering Detection of Phospholipids Resolved by HPLC. *Lipids*, **2003**, 38, 999–1003.
- [98] Helmerich, G.; Köhler, P., Einfache dünnschichtchromatographische Quantifizierung von Phospholipiden. *Getreide, Mehl und Brot*, **2002**, 56, 195–197.
- [99] Brown, G. M.; Levy, H. A., Further Refinement of the Structure of Sucrose Based on Neutron-diffraction Data. *Acta Crystallogr. B*, **1973**, 29, 790–797.

8 Anhang

8.1 Partikelgrößenverteilungen der zerkleinerten Suspensionen

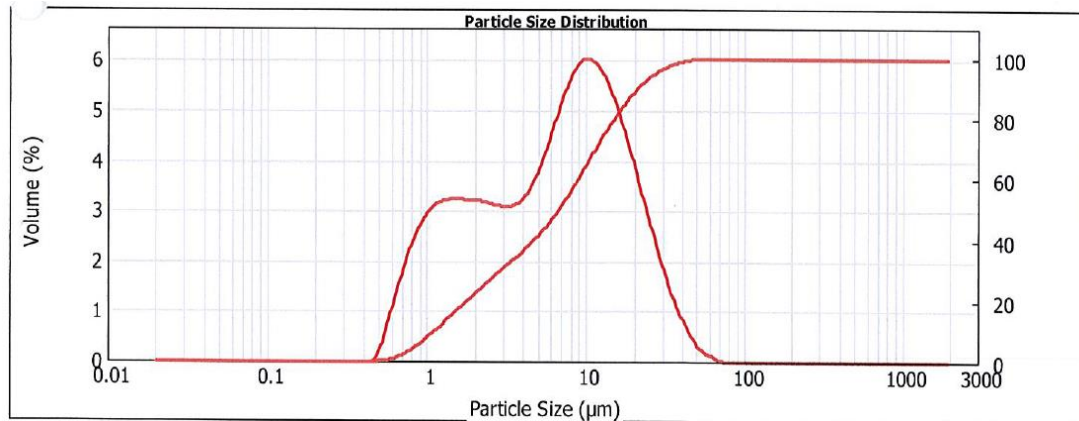


Abb. 8.1: Ergebnis der Partikelgrößenanalyse der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Kugelmühle (\varnothing 0,8 cm) zerkleinert wurden

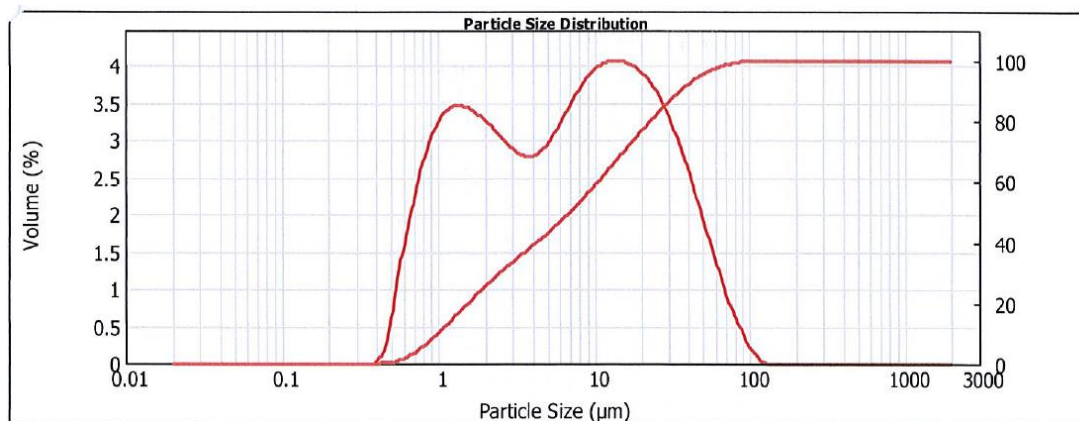


Abb. 8.2: Ergebnis der Partikelgrößenanalyse der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Schlagmühle zerkleinert wurden

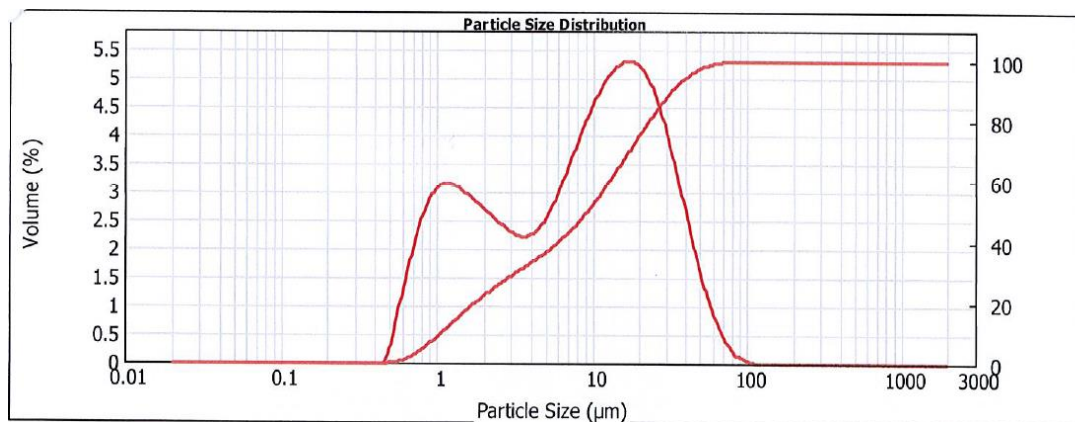


Abb. 8.3: Ergebnis der Partikelgrößenanalyse der Suspension, deren Saccharosepartikel mittels Walze zerkleinert wurden

8.2 Test der AFM-Messspitze auf Abnutzung

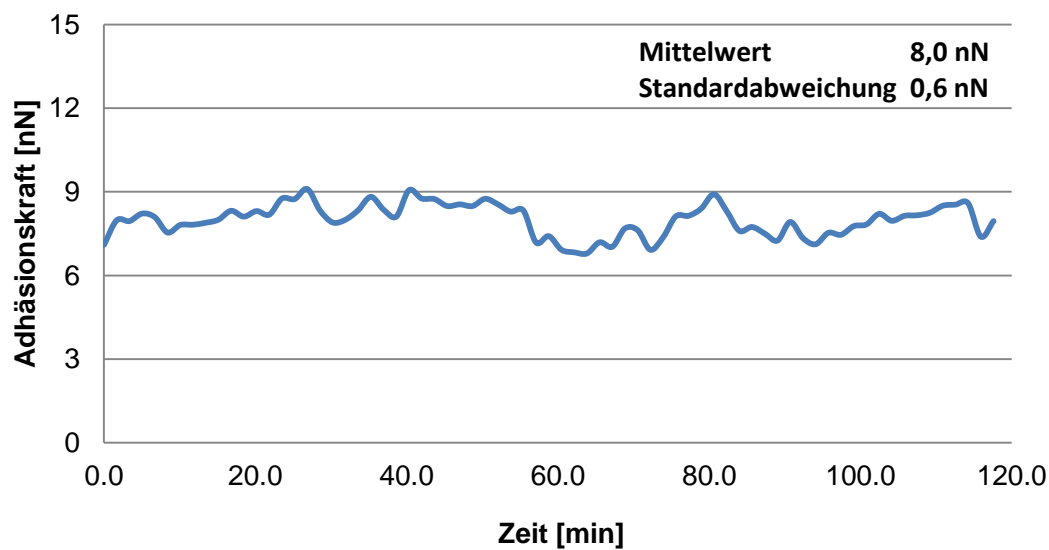


Abb. 8.4: Veränderung der Adhäsivität durch Spitzenabnutzung einer Siliziumspitze auf Glimmer gemäß Kap. 6.4.6.2, bestimmt aus den Mittelwerten der Histogramme von 70 Kraftkarten ($2 \times 2 \mu\text{m}$) mit je 10 x 10 Messungen auf ein und denselben Oberflächenbereich

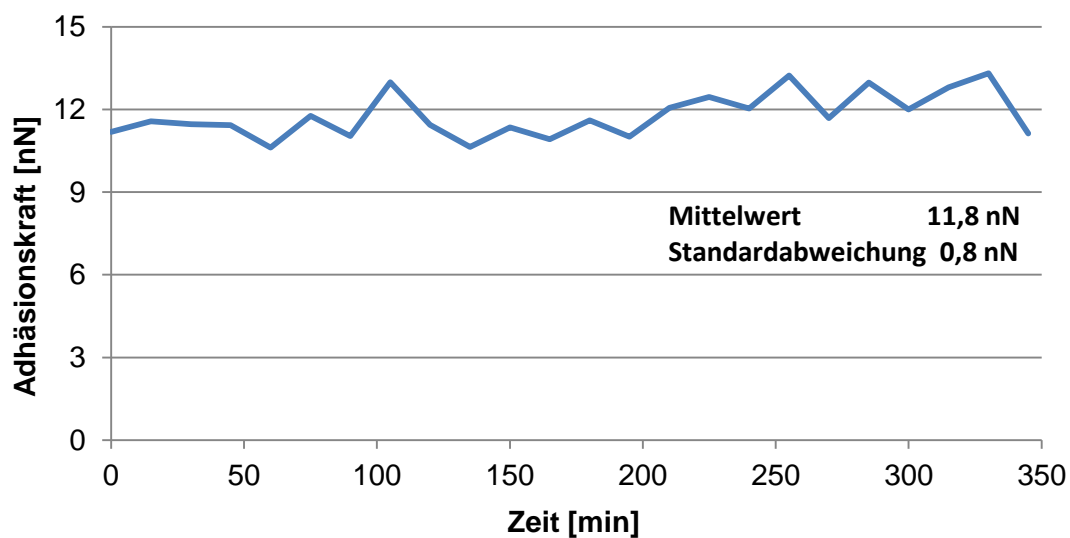


Abb. 8.5: Veränderung der Adhäsivität durch Spitzenabnutzung einer Siliziumspitze auf Saccharose gemäß Kap. 6.4.6.2, bestimmt aus den Mittelwerten der Histogramme von 23 Kraftkarten ($1 \times 1 \mu\text{m}$) mit je 30 x 30 Messungen auf ein und denselben Oberflächenbereich

8.3 DSC- Messungen zur Bestimmung von Glasübergangs- und Schmelztemperatur der Saccharide

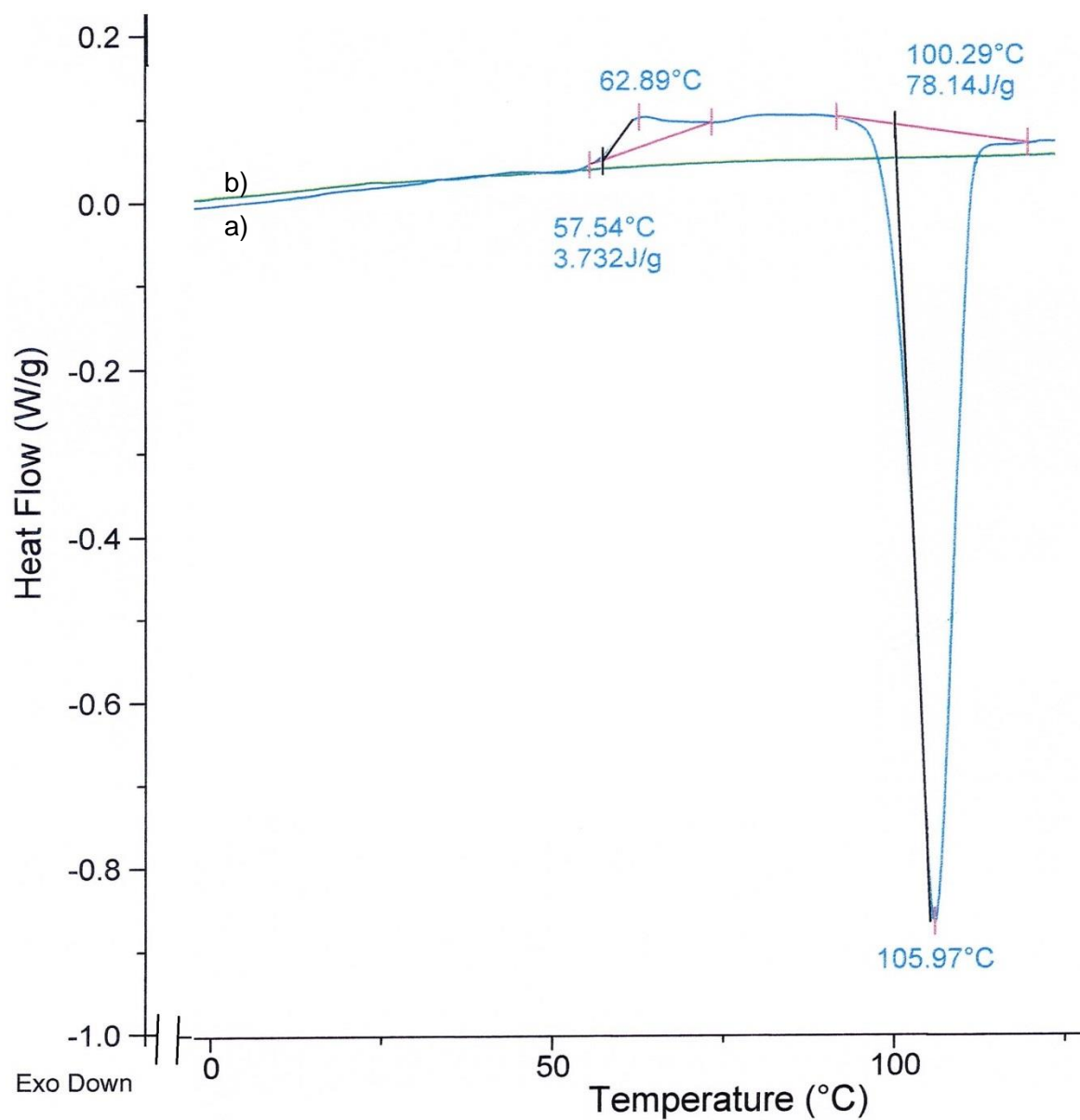


Abb. 8.6: DSC-Messung von a) amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 und b) amorpher Saccharose nach 2 min in Aceton und anschließender Trocknung unter Stickstoffatmosphäre, erster Peak = Glasübergang, zweiter Peak = Rekristallisation, das Fehlen beider Peaks in Kurve b) zeigt, dass die amorphe Saccharose durch das Aceton vollständig rekristallisiert wurde

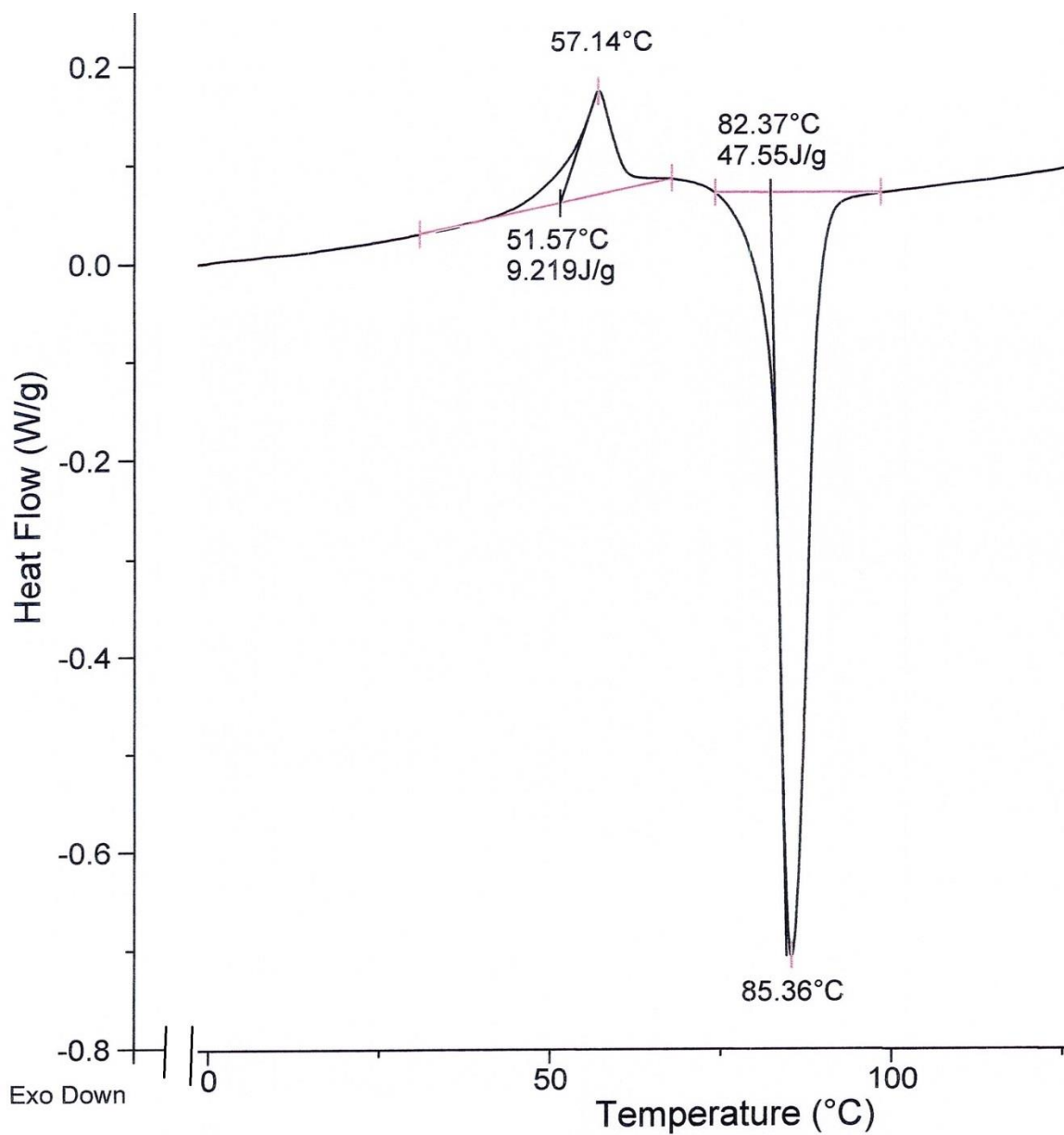


Abb. 8.7: DSC-Messung von amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 nach 2 min in Hexan und anschließender Trocknung unter Stickstoffatmosphäre erster Peak = Glasübergang, zweiter Peak = Rekristallisation

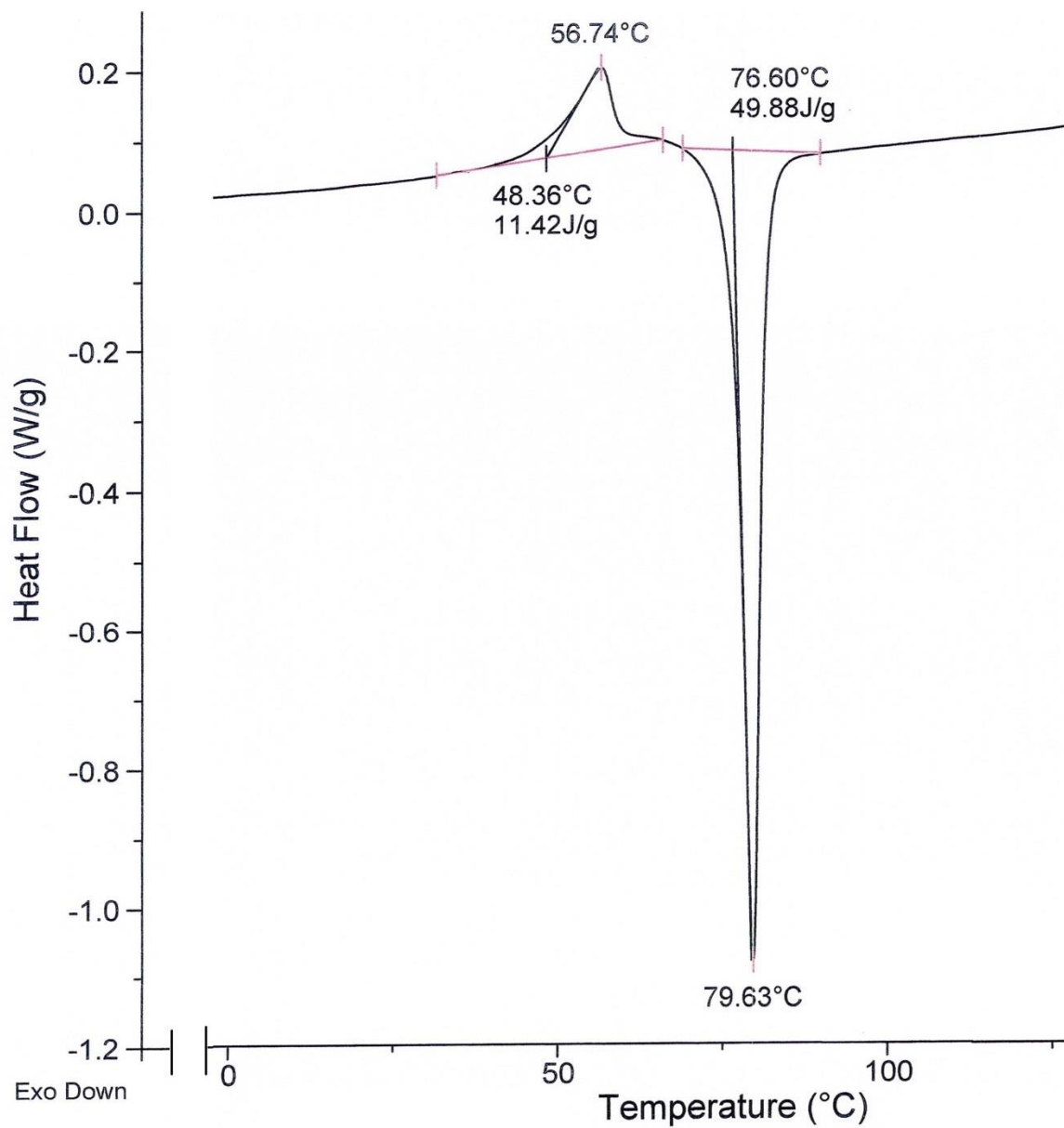


Abb. 8.8: DSC-Messung von amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 nach 5 Minuten Lagerung an Propanoldampf analog Kap. 6.4.6.1, erster Peak = Glasübergang, zweiter Peak = Rekristallisation

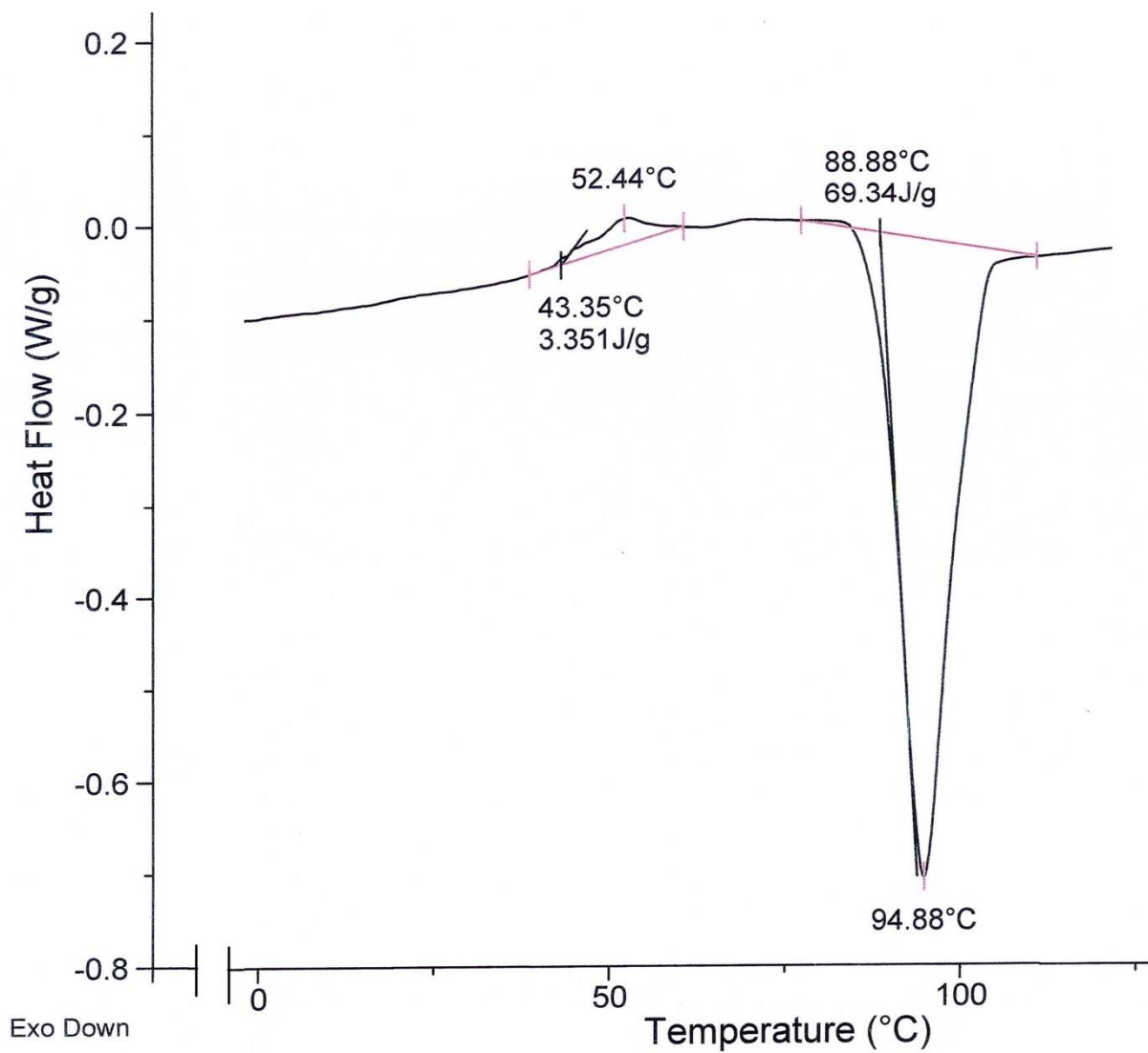


Abb. 8.9: DSC-Messung von amorpher Saccharose hergestellt nach Kap. 6.4.4 nach 5 Stunden Lagerung über gesättigter LiCl-Lösung (rH ~ 11 %), erster Peak = Glasübergang, zweiter Peak = Re-kristallisation

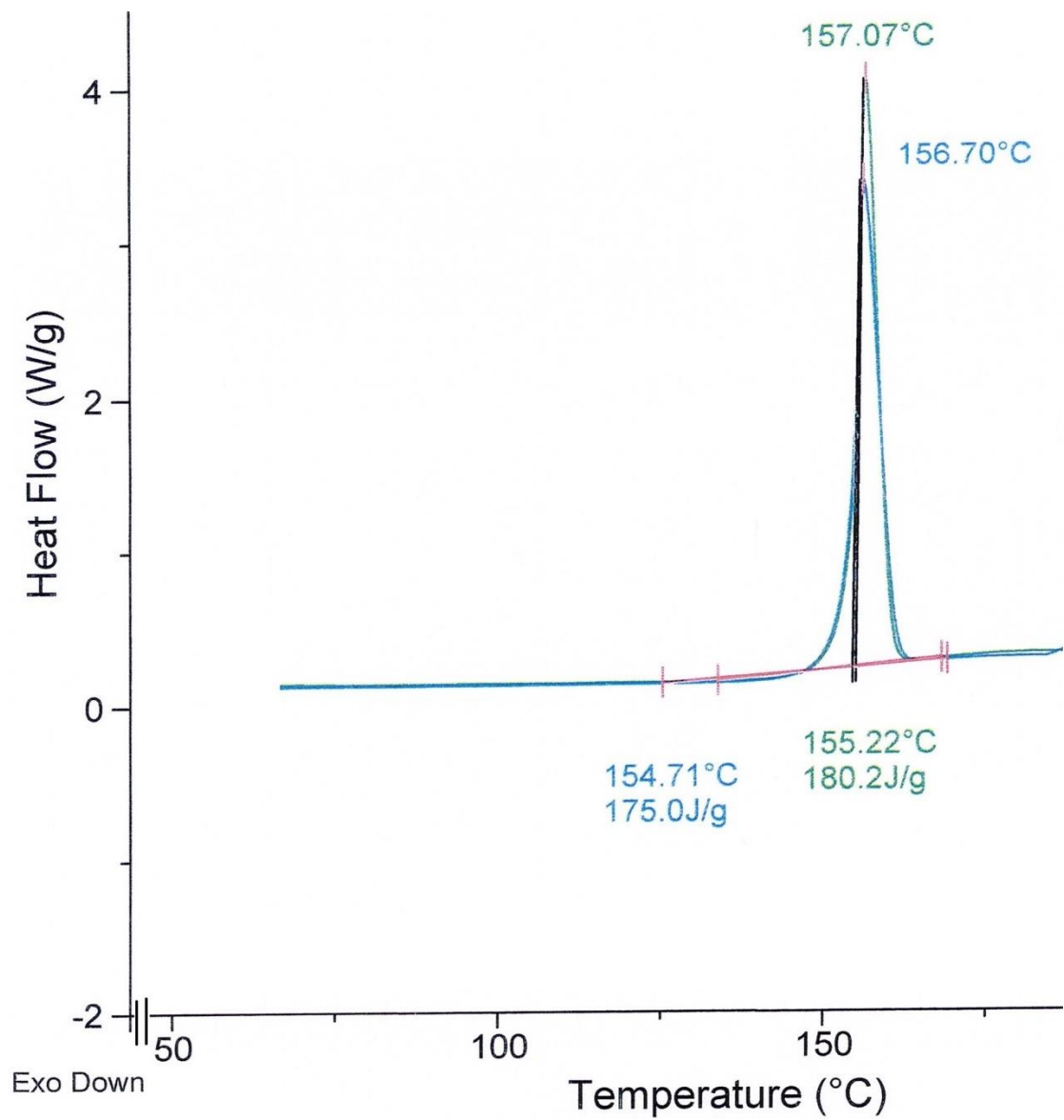


Abb. 8.10: DSC-Messung von Glucose wasserfrei, Doppelbestimmung, Peak = Schmelzen des Saccharids

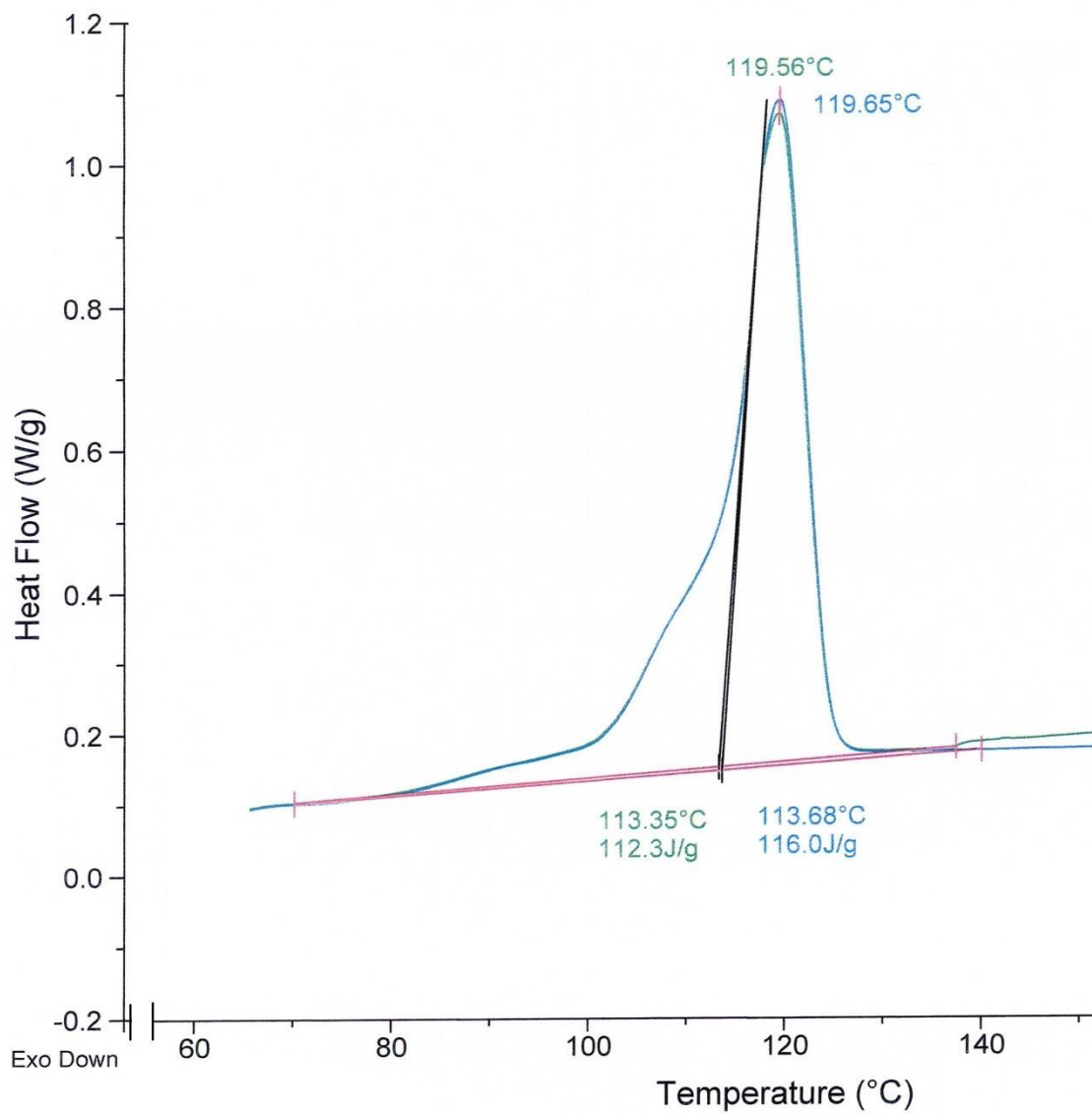


Abb. 8.11: DSC-Messung von Maltose-Monohydrat, Doppelbestimmung, Peak = Schmelzen des Saccharids

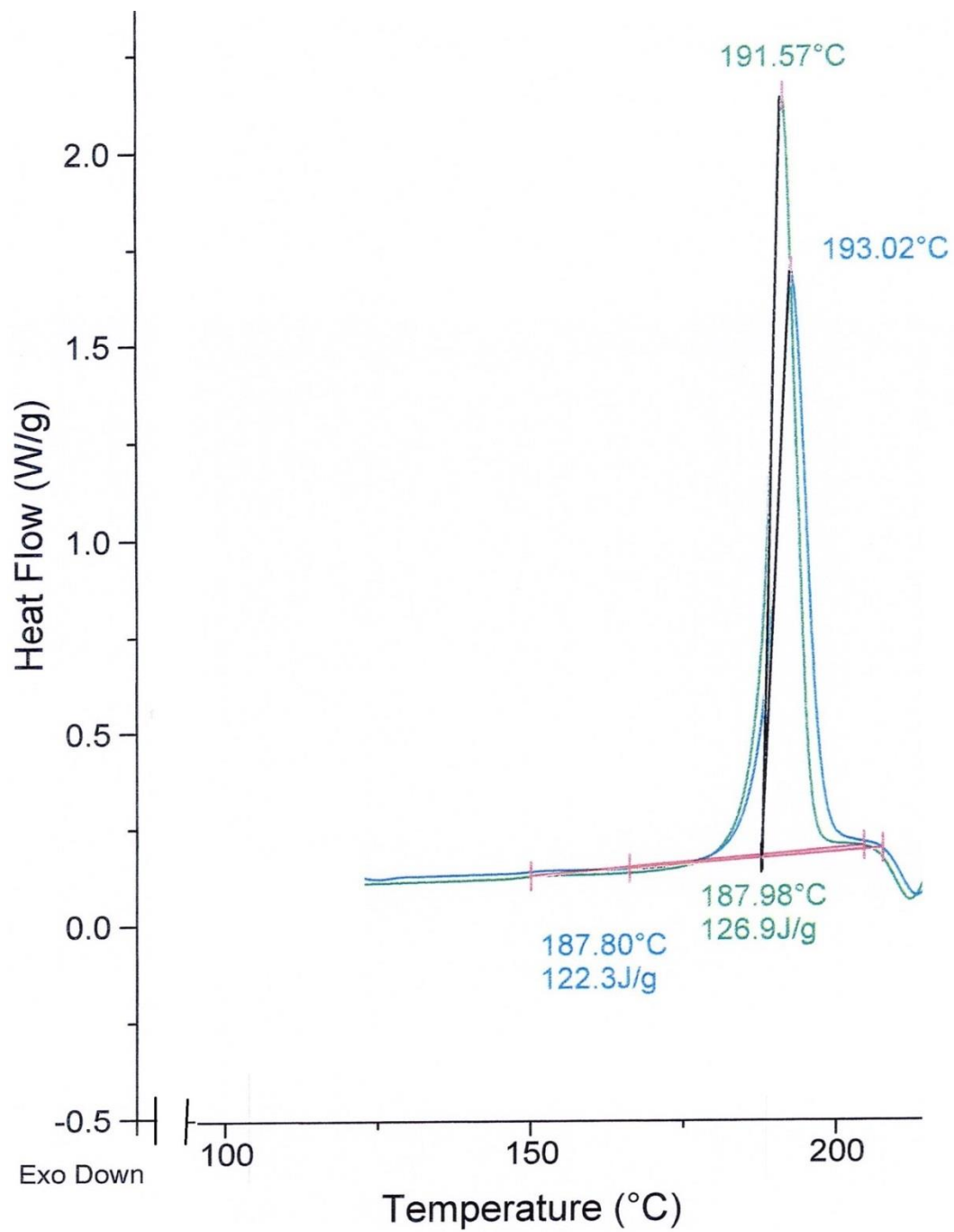


Abb. 8.12: DSC-Messung von Saccharose, Doppelbestimmung, Peak = Schmelzen des Saccharids

8.4 Erkennung von Scanartefakten

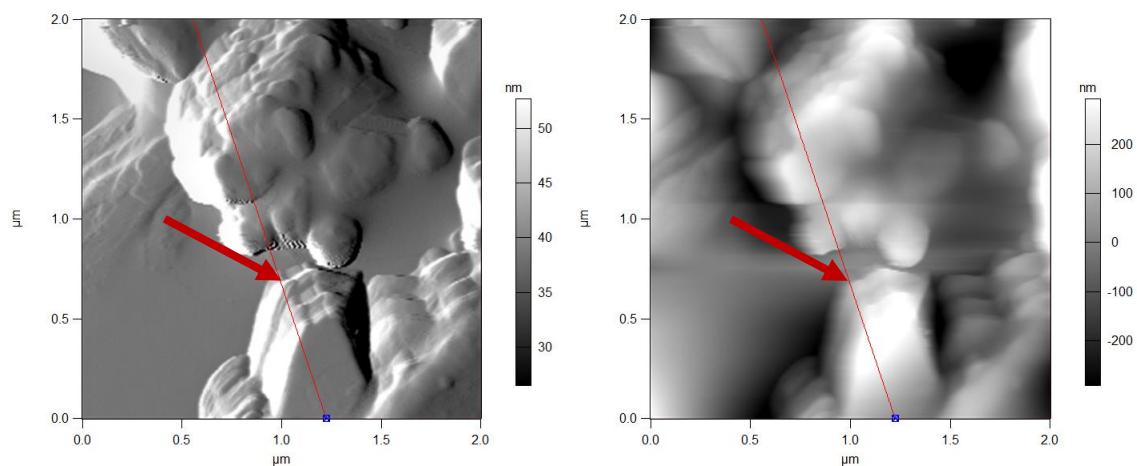


Abb. 8.13: AFM-Amplitudenbild links und AFM-Höhenbild rechts einer mit Zitronensäureester belegten Saccharosepartikeloberfläche, rote Pfeile: Scanartefakte hervorgerufen durch eine Steilkante, aufgrund von Reibung der Messspitze an dieser Kante entsteht eine Verdopplung der Signale

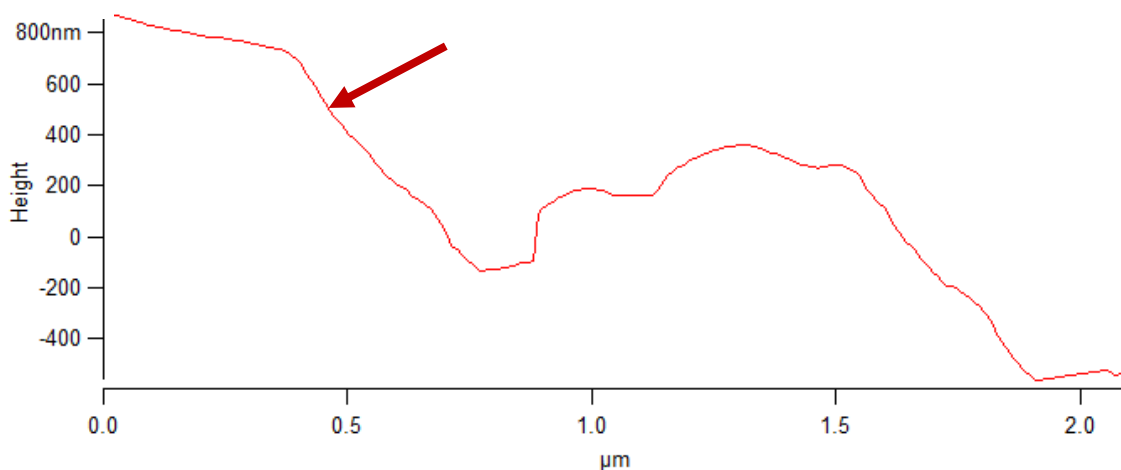
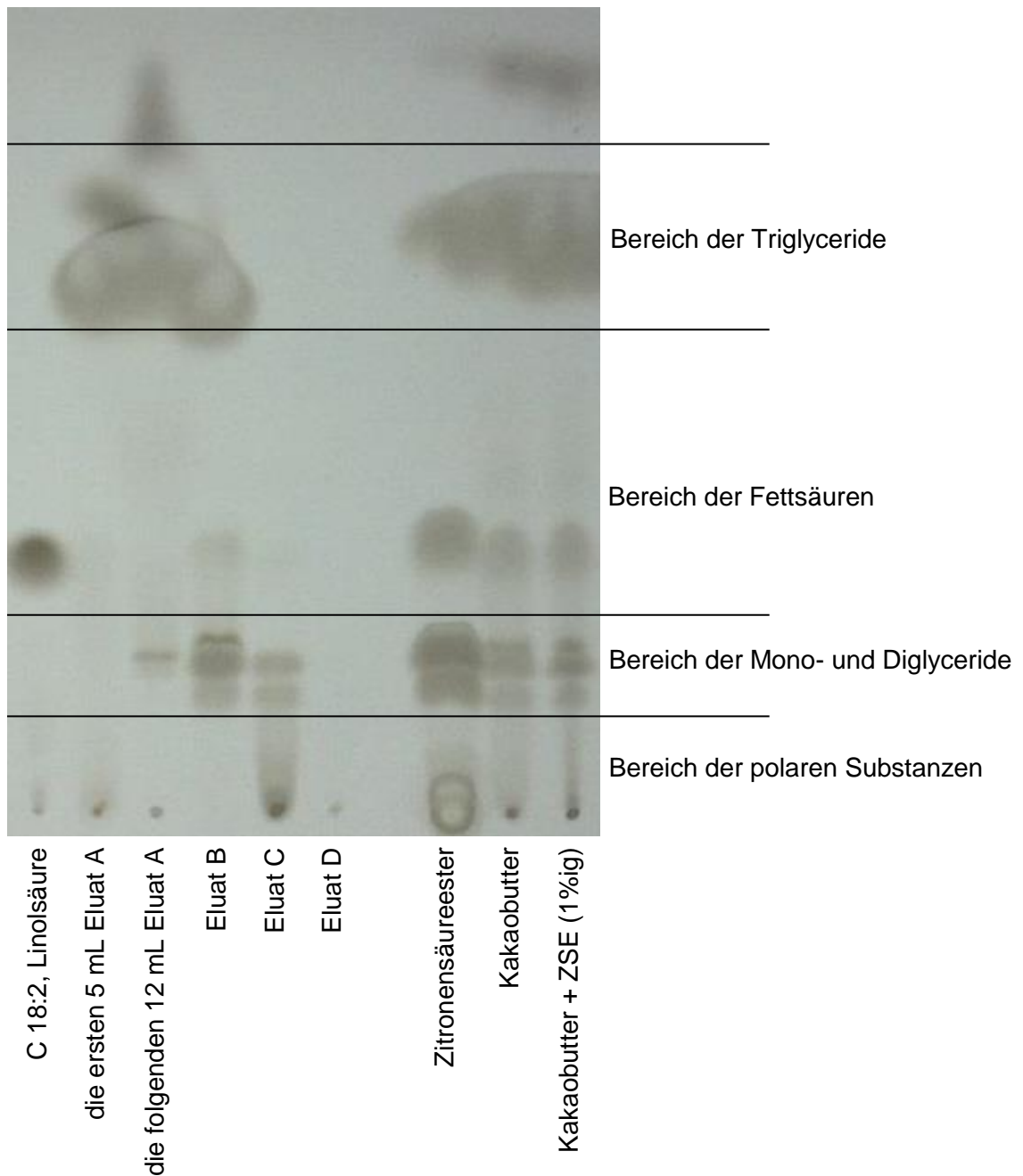


Abb. 8.14: Querschnitt entlang der roten Linie aus Abb. 8.13, roter Pfeil: das Fehlen von Stufen an dieser Stelle zeigt, dass die in Abb. 8.13 links dargestellten Strukturen Scanartefakte sind

8.5 Ergebnis der dünnschichtchromatographischen Untersuchung nach Festphasenextraktion zur Bestimmung der Zitronensäureester



8.6 Einsatz unterschiedlicher Gesamtemulgatorkonzentrationen

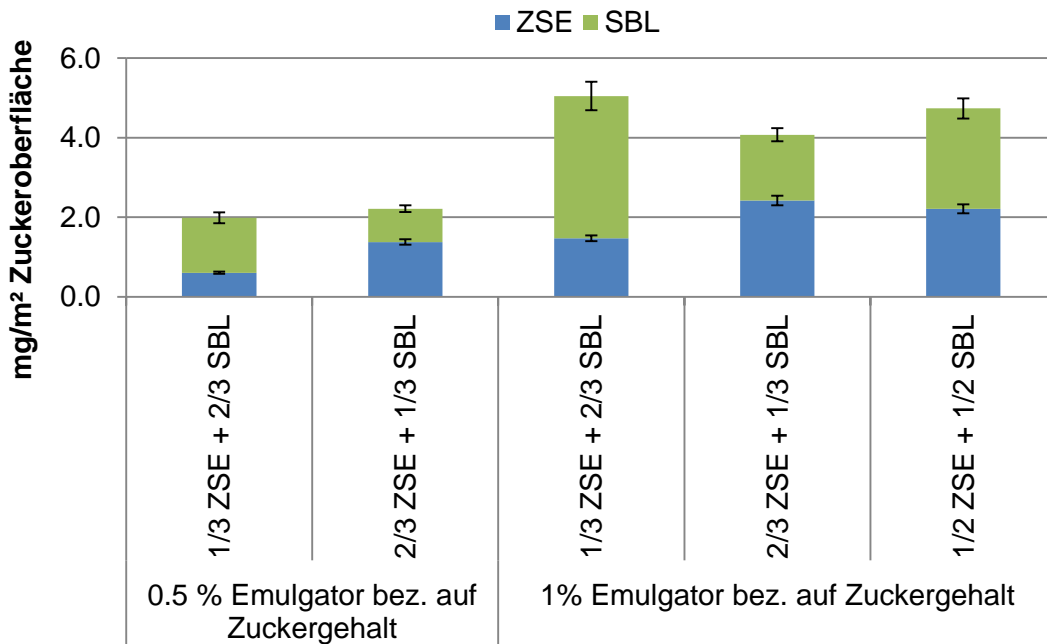


Abb. 8.15: Vergleich der Grenzflächenbelegung nach Anlagerung unterschiedlicher Gesamtkonzentrationen von Emulgatormischungen auf den mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten Saccharosepartikeln

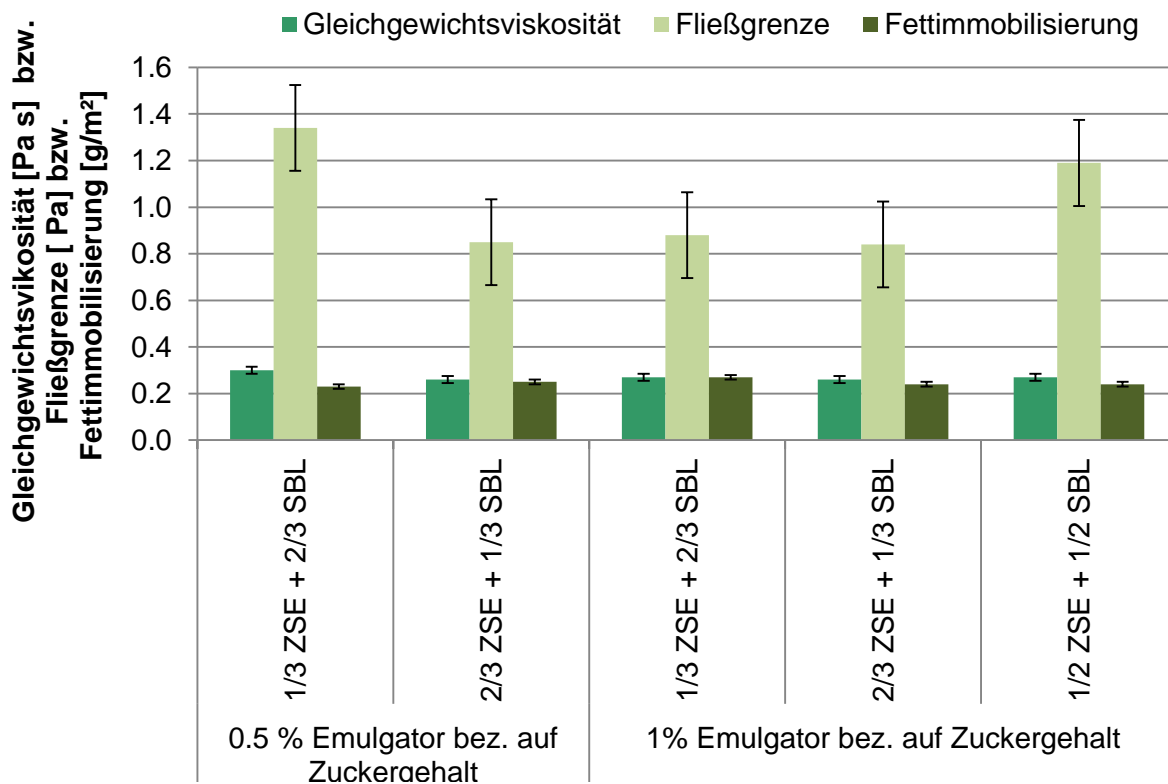


Abb. 8.16: Vergleich der makroskopischen Eigenschaften nach Einsatz unterschiedlicher Gesamtkonzentrationen von Emulgatormischungen in den mittels Kugelmühle (Kugeldurchmesser 1,5 cm) zerkleinerten Suspensionen